

Aus der Klinik für Neurologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Nahinfrarotspektroskopie
und funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie:
simultaner Ansatz bei motorischer Einzelstimulation

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin
Berlin

von

Daniel Haux

aus Pforzheim

Gutachter: 1. PD Dr. Hellmuth Obrig

2. Prof. Dr. Matthias Kohl-Bareis

3. PD Dr. Karl Kiening

Datum der Promotion: 07. Dezember 2007

1	Einleitung	6
2	Hintergrund, Problemstellung und Ziele der Arbeit.....	7
2.1	Hintergrund.....	7
2.2	Problemstellung	8
2.3	Lösungsansätze	10
2.4	Ziel der Arbeit	11
3	Methodik.....	12
3.1	Die Nahinfrarotspektroskopie (NIRS).....	12
3.1.1	<i>Entwicklung und Geschichte der NIRS</i>	12
3.1.2	<i>Physikalische Grundlagen</i>	13
3.1.3	<i>Das optische Fenster</i>	16
3.1.4	<i>Stand der Forschung</i>	18
3.1.4.1	Invasive Anwendung	18
3.1.4.2	Nicht-invasive Anwendung	19
3.2	Die funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT).....	23
3.2.1	<i>Entwicklung und Geschichte der fMRT</i>	23
3.2.2	<i>Physikalische Grundlagen der fMRT</i>	24
3.2.3	<i>Stand der Forschung</i>	25
3.2.4	<i>Der BOLD-Kontrast</i>	26
3.3	Die neurovaskuläre Kopplung.....	27
3.4	Neuroanatomische Grundlagen.....	29
3.4.1	<i>Der motorische Kortex</i>	29
4	Die Studien dieser Arbeit	31
4.1	Der NIRS-Aufbau.....	31
4.1.1.1	Lichtquelle und Detektorsystem	31
4.1.1.2	Halterung und Anbringung der Optoden	31
4.1.1.3	Aufzeichnung des kapillären Blutdruckes.....	33
4.1.2	<i>Registrierung der motorischen Antwort</i>	34
4.2	Aufbau der NIRS-fMRT-Simultanmessung	34
4.3	Das Stimulationsparadigma.....	35
4.4	Datenanalyse.....	36

4.4.1	<i>Berechnung der NIRS-Daten</i>	36
4.4.2	<i>Berechnung der fMRT-Daten</i>	36
4.4.3	<i>Rekonstruktion der Optoden-Lokalisation</i>	37
4.4.4	<i>Korrelation des [deoxy-Hb] mit dem BOLD-Kontrast</i>	38
4.5	Studie 1: Etablierung des „Single-trial“-Paradigmas und Einfluss des systemischen Blutdruckes.....	39
4.6	Studie 2: Simultane NIRS-fMRT-Aufzeichnung	40
5	Ergebnisse	41
5.1	Studie 1: motorische „Single-Trial“ Stimulation und kapillärer Blutdruck... 41	
5.1.1	<i>Das oxygenierte Hämoglobin</i>	42
5.1.2	<i>Das deoxygenierte Hämoglobin</i>	43
5.1.3	<i>Der kapilläre Blutdruck (kBP)</i>	44
5.2	Studie 2: NIRS-fMRT-Simultanmessung	46
5.2.1	<i>Die Lokalisation der Optoden</i>	46
5.2.2	<i>Das oxygenierte und deoxygenierte Hämoglobin der NIRS-Antworten</i> 46	
5.2.3	<i>Der BOLD-Kontrast in der fMRT</i>	49
5.2.4	<i>Korrelation von [deoxy-Hb] und BOLD-Kontrast</i>	51
5.2.4.1	NIRS-Messvolumen = BOLD _{max} (loc1, n=9).....	53
5.2.4.2	NIRS-Messvolumen grenzt an BOLD _{max} (loc2, n=8).....	55
5.2.4.3	NIRS-Messvolumen ≠ BOLD _{max} (loc3, n=3).....	56
5.2.4.4	NIRS-[deoxy-Hb] und -[oxy-Hb] als hämodynamische Antwortfunktion.....	57
6	Diskussion	59
6.1	Qualitative Eigenschaften der hämodynamischen Antwortfunktionen	59
6.1.1	<i>Latenz und Zeitverlauf der NIRS-Antwort</i>	59
6.1.2	<i>Latenz und Zeitverlauf des systemischen Blutdruckes</i>	60
6.1.3	<i>Systemischer Blutdruck und [oxy-Hb]</i>	61
6.1.4	<i>Systemischer Blutdruck und [deoxy-Hb]</i>	62
6.1.5	<i>Partieller Volumeneffekt und Cross-Talk</i>	62
6.2	NIRS-fMRT-Simultanansatz.....	63
6.2.1	<i>Korrelation BOLD-Kontrast mit [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]</i>	64
6.2.2	<i>Ipsilaterale BOLD-Aktivierung</i>	65
6.2.3	<i>Variabilität des BOLD-Kontrastes</i>	65
6.2.4	<i>Problem der Optodenfixierung</i>	66

6.3 Klinischer Ausblick.....	67
7 Zusammenfassung.....	68
Literaturverzeichnis	70
Anhang	82
Danksagung	82
Eidesstattliche Erklärung	83
Lebenslauf.....	84
Publikationen	85

1 Einleitung

Die Darstellung des menschlichen Gehirns wurde mit der Computertomographie (CT) und der Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) in den letzten Jahrzehnten immer weiter verfeinert. Mittlerweile sind Aufnahmen der anatomischen und morphologischen Aspekte in exzellenter Auflösung möglich. Nicht alle neurologisch relevanten Erkrankungen lassen sich jedoch anhand der Morphologie erkennen oder beurteilen. Insbesondere wenn noch keine Gewebsschädigung eingetreten ist, etwa bei einer inkomplett gestörten Durchblutung der hirnversorgenden Arterien können die funktionell bildgebenden Methoden wichtige Informationen liefern. Die bekanntesten sind die funktionelle Kernspintomographie (fMRT¹), die Positronen-Emissions-Tomographie (PET), die *Single-Photon-Emission-Computerized-Tomography* (SPECT). Neben diesen metabolische oder hämodynamische Phänomene abbildenden Techniken sind elektrophysiologische Methoden der Magnet-Enzephalographie (MEG) und die am längsten in der Neurologie etablierte funktionelle Methode, das Elektro-Enzephalogramm (EEG), von Bedeutung. Trotz guter topographischer Übersicht und gleichzeitiger Darstellbarkeit der Funktion (fMRT, PET, SPECT) wiegen die Nachteile dieser Methoden doch schwer. Sie sind nicht kontinuierlich durchführbar und extrem kostenintensiv (fMRT, PET, SPECT, MEG), verwenden radioaktive Substanzen (PET, SPECT) und sind, bis auf das EEG, für die Untersuchung am Patientenbett ungeeignet. Zu unterscheiden sind die elektrophysiologisch funktionellen Methoden (EEG, MEG), die direkte Effekte der elektrischen Aktivität der Nervenzellen abbilden, von den Verfahren, die auf der Darstellung von hämodynamischen Veränderungen durch die Hirnaktivität basieren (fMRT, PET, SPECT). Hier reiht sich die Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) ein. Als ein kostengünstiges, maschinell wenig aufwendiges und transportables Verfahren ist sie seit einigen Jahren in der Forschung etabliert. Mittlerweile lassen sich mit ihrer Hilfe auch schon einfache bildgebende Darstellungen der neurovaskulären Kopplung am menschlichen Gehirn erzielen.

Für die Anwendung der nicht-invasiven NIRS beim Menschen stellt sich die Frage, ob die durch physiologische Stimulation hervorgerufenen Änderungen mit Ergebnissen anderer funktioneller Methoden beispielsweise der fMRT vergleichbar sind und auf

¹ Bei der funktionellen MRT sind für klinische Zwecke vor allem die Perfusions- und Diffusions-gewichteten Techniken relevant. Im engeren Sinne ‚funktionell‘ werden in der Literatur meist die MRT-Techniken verstanden, die T2*-gewichtete sind und damit den ‚blood oxygen level dependent‘, kurz BOLD-Kontrast, liefern.

welche Weise am einfachsten eine reproduzierbare vaskuläre Antwort erzielt werden kann. Diese Arbeit beschäftigt sich mit einem Ansatz, der die NIRS mit der fMRT kombiniert, den Einfluss extrakranieller hämodynamischer Veränderungen auf das NIRS-Signal beleuchtet und ein motorisches Stimulationsparadigma untersucht, das auch für meist ältere Patienten geeignet ist. Damit ist das verbindende Ziel die Ermöglichung einer funktionellen Bildgebung am Krankenbett.

2 Hintergrund, Problemstellung und Ziele der Arbeit

2.1 Hintergrund

Die erste Studie, die Änderungen der Oxygenierung bei funktioneller Stimulation mit beiden Verfahren, der optischen Methode und der *blood-oxygen-level-dependent-* (BOLD-) Kontrast fMRT, beleuchtete, wurde von unserer Arbeitsgruppe 1996 durchgeführt [Kleinschmidt, A. et al. 1996]. Die funktionelle Aktivierung wurde bei neun gesunden Probanden mit Hilfe einer motorischen Blockstimulation untersucht, wobei jeweils einer Ruhephase (36 Sekunden) eine Phase mit schnell alternierender Daumen-Finger-Oppositionsbewegung (18 Sekunden) folgte. Es zeigte sich eine gute Übereinstimmung der NIRS-Antworten, bestehend aus einem Konzentrationsanstieg des oxygenierten ([oxy-Hb]) und Abfall des deoxygenierten Hämoglobins ([deoxy-Hb]) und dem in der MRT nachweisbaren Anstieg des BOLD-Kontrastes kontralateral zur bewegten Seite. Nach Ende der Stimulationsphase kehrten die Parameter mit einer gewissen Latenz wieder auf das jeweilige Basisniveau zurück. Diese Konkordanz zeigte sich nur bei jenen Probanden mit guter Übereinstimmung der Lokalisation des NIRS-Messvolumens mit der aktivierten Region. Für die NIRS-Aufzeichnung wurde damals noch der kommerzielle NIRO-500-Monitor (Hamatsu, Herrsching, Deutschland) verwendet, der die Absorptionsänderungen bei vier definierten Wellenlängen an einem einzelnen Messort misst. Einige wenige Studien haben bisher ähnliche simultane Versuchsanordnungen verwendet, wobei immer ein ‚*block-design*‘ mit einer mindestens 30 Sekunden dauernden Stimulationsphase gewählt wurde [Toronov, V. et al. 2001; Kato, H. et al. 2002; Maki, A. et al. 1995]. In einer Untersuchung für kurze, so genannte „*single-trial*“ konfigurierte motorische Paradigmen hat unsere Arbeitsgruppe Aktivierung bei extrem kurzen Fingerbewegungen mit der NIRS gezeigt [Obrig, H. et al. 2000]. In

der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, ob die relativ grobe räumliche Auflösung der NIRS ausreicht, auch bei solchen Einzelstimulationen eine motorische Ereignis-bezogene („*event-related*“) Antwort bei simultaner Messung mit fMRT und NIRS (mit kontinuierlichem Spektrum) zu detektieren.

In Vorbereitung hierzu sollte zunächst die Frage beantwortet werden, ob die verglichen mit Blockstimulationen erwartungsgemäß deutlich kleinere Antwort der NIRS-Parameter ausreicht um eine zerebrale Antwort sicher zu identifizieren. Außerdem sollte untersucht werden, ob systemische hämodynamische Einflüsse diese Antwort nicht überlagern. Untersuchungen am mehrschichtigen Modell und am Menschen unter Verabreichung eines intravasalen Farbstoffes haben zur Identifizierung des extrazerebralen Signalanteils beigetragen [Steinbrink, J. et al. 2001; Kohl-Bareis, M. et al. 2002]. Der hier verwendete Ansatz versucht, sich durch einen vollkommen nicht-invasiven Zugang ohne die Gabe intravenöser Farbstoffe als Kontrastmittel dieser Frage zu nähern.

2.2 Problemstellung

Ziel der Arbeit war es ein Stimulations-Paradigma zu entwickeln, das bei Patienten am Bett genutzt werden kann und bei dem gleichzeitig die kortikale vaskuläre Antwort mit funktionellen Messungen bei Patienten in der fMRT verglichen werden kann. Da im Rahmen insbesondere vaskulärer Hirnerkrankungen eine Hemiparese eine der häufigsten und zugleich relevantesten Defizite darstellt, wurde ein motorisches Paradigma genutzt. Methodisch vorteilhaft ist bei diesem Paradigma, dass es für die NIRS und die fMRT gut etabliert ist. Bei der Entwicklung und Testung eines solchen Paradigmas sind jedoch generelle Problemstellungen funktioneller Aktivierungsstudien bei verschiedenen Kollektiven von Probanden und Patienten und spezifische Limitationen der genutzten Methoden zu berücksichtigen.

Die Stimulation mittels komplexer motorischer Paradigmen kann durch verschiedene Phänomene die neuronale und damit auch die vaskuläre Antwort beeinflussen. Eine sichere Reproduzierbarkeit der Signalantwort kann daher bereits beim selben Probanden schwierig sein. So ist für den BOLD-Kontrast bekannt, dass es zu Schwankungen in Größe des „aktivierten“ Areal und der Amplitude der Signalverläufe bei seriellen Untersuchungen einzelner Probanden kommen kann. Bei aufeinander folgenden Untersuchungen derselben Person können die Ursache Habituation oder

Lernprozesse sein [Loubinoux, I. et al. 2001]. Loubinoux und Kollegen untersuchten insgesamt 21 gesunde Personen mittels sensomotorischer Blockstimulationen von jeweils 30 Sekunden Länge. Innerhalb einer Messung beobachteten sie keine größeren Schwankungen des Signalverhaltens. Bei aufeinander folgenden Messungen der gleichen Person fiel jedoch eine verringerte Aktivität im kontralateralen primären sensomotorischen, im parietalen und im supplementärmotorischen Kortex bei gesteigerter Antwort in den prämotorischen Arealen im Vergleich zur ersten Messung auf. Bei einer dritten Messung verringerten sich diese Änderungen wiederum. Die Autoren diskutieren für solche dynamischen Veränderungen im Rahmen serieller Untersuchungen unter anderem eine verringerte Aufmerksamkeit und geringeren Stress in den Folgeuntersuchungen als mögliche Ursachen.

Auch beim interindividuellen Vergleich und insbesondere zwischen verschiedenen Altersgruppen zeigen sich Unterschiede in der hämodynamischen Antwort [Buckner, R. L. et al. 2000]. Buckner und Mitarbeiter demonstrierten die Schwierigkeit im Vergleich des Signalverhaltens innerhalb verschiedener Altersgruppen und zwischen gesunden und dementen Patienten. Für ein motorisches Paradigma zur mehrfachen funktionellen Untersuchung gerade bei älteren Patienten ist daher zu fordern, dass es möglichst einfach aufgebaut ist, wenig komplexe potentiell durch Lernvorgänge relevant beeinflussbare Koordinationsleistungen erfordert und so mindestens eine intraindividuelle Vergleichbarkeit des Signalverhaltens bei sukzessiven Messungen gewährleistet. Insbesondere bei Patienten mit einem motorischen Defizit ist es wichtig, dass der Patient das Paradigma mit ähnlicher Präzision im Rahmen des akuten, subakuten und chronischen Defizits ausführen kann, da sonst eine Trennung von rehabilitativem funktionellem Beitrag und potentiellen Änderungen der vaskulären Antwort nicht möglich ist.

Wir untersuchten daher als Paradigma eine einfache schnellende Beugebewegung (Tastendruck) des Zeigefingers (*single tap*). Bislang fehlt der Nachweis, dass auch bei einer solchen motorischen *single-trial* Stimulation ein ausreichendes NIRS Signal ableitbar ist, das mit den in der MRT gemessenen BOLD Kontrast-Änderungen korreliert. Bei den erwarteten kleineren Antworten auf die kurzen Stimulationsimpulse ist weiterhin zu bedenken, dass unter Umständen bereits eine nur geringe Fehllokalisierung der Optoden die Detektion einer NIRS-Antwort vereiteln könnte. Nicht bekannt ist jedoch, wie groß die Abweichung von der idealen Position über dem Zielareal sein darf, um noch einen ausreichenden zerebralen Beitrag zum NIRS-Signal zu erhalten. Diese

beiden Problemstellungen wurden mit dem simultanen Ansatz fMRT-NIRS bearbeitet.

Eine weitere hier untersuchte Fragestellung bezieht sich auf eine methodenspezifische Limitation der NIRS. Da die NIRS nicht-invasiv ist, tragen alle blutführenden Schichten (Kopfhaut, Periost, Dura et pia mater, Arachnoidea mater) immer auch zum NIRS-Signal bei. Solange angenommen werden kann, dass die extrazerebralen Anteile des Messvolumens keine Änderungen der Hämodynamik erfahren, sind gemessene Änderungen auf zerebral-kortikale Oxygenierungsänderungen zu beziehen. Ob bei einem einfachen *single-trial* Stimulationsparadigma jedoch der sicher zerebrale Beitrag groß genug ist, um eine Lateralisierung der Antwort bei einseitiger motorischer Stimulation hervorzurufen, ist bisher unklar. Nicht lateralisierte Oxygenierungsänderungen können potentiell auch durch Änderungen der systemischen, und damit zum Beispiel auch der Hautdurchblutung hervorgerufen werden.

2.3 Lösungsansätze

Zur Lösung der dargelegten Probleme wird ein 2-Kanal-NIRS-System verwendet, mit dem das Signalverhalten der bilateralen primärmotorischen Regionen (M1) auf jeweils ipsi- und kontralaterale motorische Stimulation aufgezeichnet werden kann. Durch simultane Aufzeichnung des kapillären Blutdruckes als systemisch-hämodynamischem Parameter und der NIRS (Studie 1) soll die Änderung der extrazerebralen Hämodynamik beurteilt und mit der intrazerebralen Oxygenierung verglichen werden. Eine Änderung der systemischen Durchblutung sollte sich auf alle perfundierten Gewebe ungefähr gleichartig auswirken. Insbesondere sollte keine Lateralisierung der Hautdurchblutung zur Gegenseite der bewegten Hand auftreten. Damit kann umgekehrt sicher von einer intrazerebralen kortikalen Antwort ausgegangen werden, wenn sich eine Lateralisierung des NIRS-Signals auf eine Stimulation hin aufzeichnen lässt.

Neben dieser gleichzeitigen Messung mit einem Parameter der systemischen Hämodynamik beschäftigt sich die vorliegende Arbeit in einer zweiten Studie mit einer simultanen Messung der Oxygenierungs- und der BOLD-Kontrast-Antwort mittels kombinierter NIRS- und fMRT-Messungen. Einerseits sollte die Abhängigkeit der NIRS-Ergebnisse von der Lokalisation der Optoden durch Simultanmessung des optischen Spektrums und der fMRT überprüft werden. Dieser Ansatz bietet den Vorteil, nicht von

äußeren knöchernen Orientierungspunkten abhängig zu sein. Die Lokalisation der Lichtleiter lässt sich in Bezug zur individuellen Topographie des Kortex kontrollieren und entsprechend anpassen. Gleichzeitig ist für beide Methoden die Konzentration des gleichen physiologischen Parameters, des [deoxy-Hb], konstitutiv für die gemessenen Signale. Sie sind daher gut vergleichbar. Dies eröffnet die Perspektive, Messungen bei Patienten durchzuführen, bei denen sich eine räumlich gut aufgelöste Kartierung der vaskulären Antwort anhand der fMRT und eine regelmäßige longitudinale Untersuchung mit der NIRS am Krankenbett ergänzen.

2.4 Ziel der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Darstellung einer vaskulären Antwort auf motorische Einzelstimulation mit der NIRS und der fMRT. Im ersten Schritt ist es hierzu erforderlich, ein Paradigma zu entwickeln, das bei einer sehr kurzen und einfachen motorischen Stimulation eine ausreichende vaskuläre Antwort für eine messbare zerebrale Oxygenierungsänderung erzeugt. Hierbei soll der Einfluss des systemischen kapillären Blutdruckes auf das Signalverhalten im CCD-gestützten NIRS-System ermittelt werden. In einem zweiten Schritt soll der Einfluss der Optoden-Lokalisation auf das NIRS-Signal durch die zeitgleiche Messung in der fMRT untersucht werden. Hierbei soll die Übereinstimmung der [deoxy-Hb]-Fraktion der NIRS und des BOLD-Kontrastes bestätigt werden.

Diese Schritte dienen dem übergeordneten Ziel, eine funktionelle Diagnostik in die Klinik zu holen, also die Basis dafür zu schaffen, die eindrucksvoll reiche Befundvielfalt der neueren bildgebenden Verfahren einer Anwendung bei neurologischen Erkrankungen näher zu bringen.

3 Methodik

Die Methoden, die in dieser Arbeit zum Einsatz kamen, sind die Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) und die funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT). Im Folgenden werden ihre Grundlagen umrissen und ihre Anwendung erklärt.

3.1 Die Nahinfrarotspektroskopie (NIRS)

3.1.1 Entwicklung und Geschichte der NIRS

Die Nahinfrarotspektroskopie entwickelte sich seit den 1970-er Jahren zu einer Methode zur nicht-invasiven Darstellung von Gewebeeigenschaften vor allem auch für zerebrales Gewebe. Bereits 200 Jahre früher, beschrieb Lambert den Zusammenhang von Lichtabsorption und Konzentration eines absorbierenden gelösten Stoffes (Lambert 1760, zit. nach [Severinghaus, J. W. and Astrup, P. B. 1987]). Beer griff die Ideen von Lambert auf, entwickelte sie weiter und formulierte daraus das Lambert-Beer'sche Gesetz [Beer, A. 1851].

Die Beschreibung des Sauerstoff transportierenden Blutfarbstoffes erfolgte 1864 durch Stokes [Stokes, G. G. 1864]. Hoppe-Seyler prägte den Begriff „Hämoglobin“ und zeigte darüber hinaus, dass oxygeniertes und deoxygeniertes Blut anhand der Lichtabsorption unterschieden werden können [Hoppe-Seyler, F. 1864].

Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse konnten mit Hilfe des von Kirchhoff und Bunsen entwickelten Spektrometers [Kirchhoff, G. R. and Bunsen, R. W. E. 1860] Untersuchungen der Absorptionsspektren des Hämoglobins und Oxyhämoglobins in Lösungen und Geweben durchgeführt werden [von Vierodt, K. 1876],[Hüfner, G. 1890].

Die klinische Anwendung begann 1942 durch Milikan, der das erste Gerät zur Messung der Gewebsoxygenierung, ein zweistrahliges Ohroxymeter, entwickelte [Millikan, G. A. 1942]. Dieser auf zwei Wellenlängen basierende Ansatz wurde von Rosenthal, LaManna und Kollegen zur Untersuchung der Hämoglobinoxxygenierung im Tiermodell genutzt [LaManna, J. C. et al. 1984] und von Lübbers zur „rapid-scanning photometry“ weiterentwickelt [Lübbers, D and Niesel, W. 1957], die ebenfalls im Tierversuch Einsatz fand [LaManna, J. C. et al. 1987].

Bedeutung für die Anwendung am Menschen erlangte die Methode, als Jöbsis 1977

zeigen konnte, dass die zerebrale Oxygenierung nicht-invasiv durch den intakten Schädelknochen hindurch mit nahinfrarotem Licht untersucht werden kann. Er führte diese Untersuchungen zunächst an anästhesierten Katzen und später auch an Menschen durch und prägte den Begriff „transkranielle Spektroskopie“ [Jöbsis, F. F. 1977]. Weitere klinische Studien folgten in den 1980-er Jahren bei Früh- und Neugeborenen zur Untersuchung der Auswirkung einer perinatalen Hypoxie auf die zerebrale Oxygenierung [Brazy, J. E. et al. 1985; Wyatt, J. S. et al. 1986].

Unsere Gruppe hat sich in den letzten zehn Jahren insbesondere für den Einsatz der NIRS für funktionelle Aktivierungsstudien beim Erwachsenen eingesetzt. Dabei stehen die Fragen nach der Signalphysiologie der bildgebenden Techniken, wie der fMRT und der PET, die Kombination mit Messungen der neuronal-elektrophysiologischen zerebralen Antwort (EEG/MEG) und die Anwendung in der Klinik bei neurologischen Erkrankungen im Vordergrund. Eine Übersicht über unsere Arbeit findet sich in Obrig „Nahinfrarotspektroskopie des Gehirns“ [Obrig, H. 2002].

3.1.2 Physikalische Grundlagen

Das zugrunde liegende Prinzip der NIRS ist durch das Lambert-Beer'sche Gesetz dargestellt

$$\Delta A_{\lambda} = \Delta c * \epsilon_{\lambda} * d$$

Gleichung 1: A_{λ} =Abschwächung bei Wellenlänge λ ; ϵ =spezifischer Extinktionskoeffizient, c =Konzentration, d =Schichtdicke

Die Konzentration (c) eines gelösten Farbstoffes lässt sich berechnen, wenn man Licht einer bestimmten Wellenlänge (λ) durch die Lösung schickt und die Abschwächung des Lichtes misst. Dazu müssen der Extinktionskoeffizient des Farbstoffes (ϵ_{λ}) bei der verwendeten Wellenlänge und die Wegstrecke (d), die das Licht in dem Medium zurücklegt, bekannt sein. Diese Annahme gilt streng genommen nur für eine ‚unendlich verdünnte‘ Lösung, in der die Abschwächung des Lichtes allein durch Absorption bedingt ist und keine Streuung stattfindet.

Biologisches Gewebe besteht aus verschiedensten absorbierenden und streuenden Bestandteilen, die zur Attenuation des Lichtes beitragen. Auch im von der NIRS

genutzten Spektralbereich ist die Streuung des Lichtes sehr groß. Um dennoch Konzentrationsänderungen von Chromophoren im durchstrahlten Gewebe bestimmen zu können, wird in einer Näherung von einer hohen, aber konstanten Streuung ausgegangen [Cope, M. and Delpy, D. T. 1988]. Unter dieser Annahme ist nicht mehr die absolute Konzentration, wohl aber die Änderung der absorbierenden Chromophore zu bestimmen. Die Annahme der hohen, aber konstanten Streuung beruht auf der Tatsache, dass eine Änderung des zerebralen Blutflusses die Streuung (dominiert durch die Zelldichte) nur wenig, die Absorption (dominiert durch die Konzentration von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]) jedoch stark beeinflusst.

Im Gegensatz zur Anwendung beim Neugeborenen, wo die Durchstrahlung des gesamten Schädels („Transillumination“) möglich ist, kann beim Erwachsenen die NIRS nur im „Reflexionsmodus“ durchgeführt werden. Lichtquelle und -detektor werden hierbei im Abstand von wenigen Zentimetern auf der gleichen Seite des Kopfes angebracht (siehe Abb. 1). Dabei werden nur Photonen erfasst, die nach mehreren Streueignissen wieder an die Oberfläche reflektiert werden. Mit der Anzahl der Streueignisse vergrößert sich der individuelle Weg, den jedes Photon im Gewebe zurücklegt. Er ist damit größer als der geometrische Abstand der Optoden.

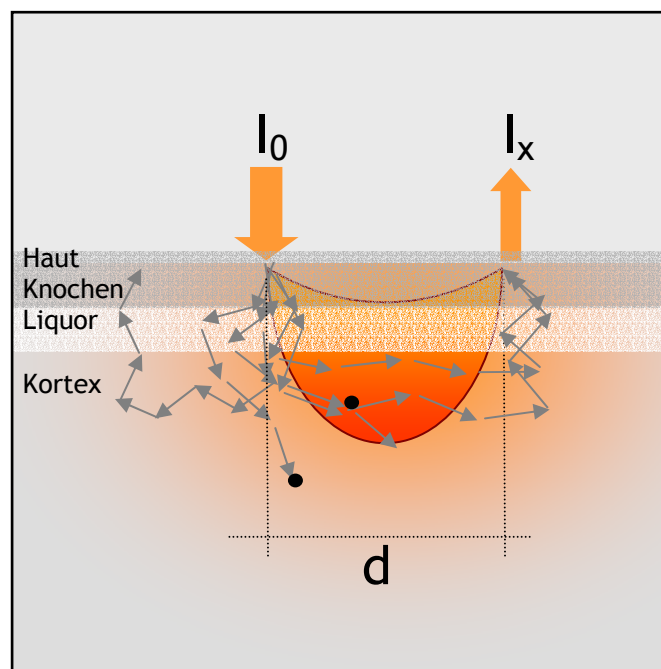


Abb. 1 Schematische Darstellung der NIRS beim Erwachsenen. Die Lichtquelle (I_0) ist im Abstand (d) vom Empfänger (I_x) auf der Kopfhaut angebracht. Die Pfeile markieren die durch verschiedene Streueignisse unterschiedlichen Pfade der Photonen. Nur jene Photonen, die beim Durchqueren des Gewebes innerhalb des rot markierten Bereiches verlaufen, können detektiert und spektral analysiert werden.

Es ergeben sich also zwei wichtige Modifikationen des Lambert-Beer'schen Gesetzes. Zum einen muss ein relevanter, aber konstanter Streuverlust berücksichtigt werden. Weiterhin ist der mittlere von Photonen zurückgelegte Weg ein Vielfaches des geometrischen Abstandes zwischen der Sender- und der Empfängeroptode. Die für stark streuende Gewebe modifizierte Form des Lambert-Beer'schen Gesetzes zeigt Gleichung 2:

$$A_{\lambda} = c \cdot \varepsilon_{\lambda} \cdot d \cdot \text{DPF}_{\lambda} + G \Rightarrow$$

$$\delta A_{\lambda} = \delta c \cdot \varepsilon_{\lambda} \cdot d \cdot \text{DPF}_{\lambda}$$

Gleichung 2: Modifiziertes Lambert-Beer'sches Gesetz mit differentiellem Pfadlängenfaktor (DPF). Der Geometriefaktor (G) setzt sich aus dem Absorptionskoeffizienten (μ_a) und Streukoeffizienten (μ_s) des durchleuchteten Gewebes zusammen. Damit werden die verlängerte Wegstrecke und der Verlust von Photonen durch Interaktion (Absorption und Streuung) mit für die Messung interessierenden Gewebebestandteilen berücksichtigt.

Diese modifizierte Form des Lambert-Beer'schen Gesetzes geht von einer konstanten Streuung aus. Photonen, die durch Streuung das Messvolumen verlassen, werden durch den Term G berücksichtigt. Die durch multiple Streueignisse vergrößerte mittlere Wegstrecke des Lichtes fließt als Faktor DPF in die Gleichung ein. Der Geometriefaktor G kann am adulten Kopf nicht exakt bestimmt werden, wodurch eine Quantifizierung der Konzentrationsänderungen nicht ohne weiteres möglich ist. Durch Differenzierung über die Zeit, $\Delta A_{\lambda(t)}$, entfällt G. Bei bekanntem DPF kann die Änderung der Konzentration dann quantitativ bestimmt werden. Neuere, zeitaufgelöste, methodische Ansätze lassen eine individuelle Bestimmung des DPF zu. Nach Duncan und Mitarbeitern ist der DPF bei einem Optodenabstand von mehr als 2,5 cm in Abhängigkeit vom Alter konstant und beträgt 6,26 beim Erwachsenen [Duncan, A. et al. 1996]. Die in dieser Arbeit angegebenen Konzentrationsänderungen von oxy- und deoxy-Hb in μM sind berechnete Werte und beruhen auf diesem extern bestimmten DPF.

3.1.3 Das optische Fenster

Die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes liegt zwischen 400 und 800nm. Schickt man weißes Licht, eine Mischung aller Frequenzen dieses Spektralbereiches, durch biologisches Gewebe, wird es fast vollständig absorbiert. Nur das so genannte „nahinfrarote“ Licht mit Wellenlängen im Bereich zwischen 700-950 nm kann Haut-, Muskel- und sogar Knochengewebe relativ ungehindert durchdringen. Biologische Gewebe haben also zwischen etwa 700 und 950 nm ein „optisches Fenster“, das nach unten durch die sehr hohe Absorption des Hämoglobins, nach oben durch die des Wassers begrenzt wird.

Innerhalb dieser Grenzen haben einige Stoffe charakteristische Absorptionsmaxima. Zu ihnen zählen das Hämoglobin und die Cytochrom-c-Oxidase (Cyt-Ox).

Dass der Extinktionskoeffizient des Hämoglobins vom Oxygenierungszustand abhängt [Cope, M. 1991], gilt auch im sichtbaren Spektralbereich. Man halte sich die dunklere, violette Farbe des venösen im Vergleich zum arteriellen Blut vor Augen. Im nahinfraroten Spektralbereich hat das deoxy-Hb ein charakteristisches Absorptionsmaximum bei 760 nm (siehe Abb. 2). Für die NIRS stehen somit zwei Farbstoffe (Hb und Cyt) zur Verfügung, die abhängig von der Sauerstoffbindung ihre Farbe ändern. Bei der Cytochromoxidase wird meist nur das Differenzspektrum zwischen oxidiertem und reduziertem Zustand angegeben, da angenommen werden kann, dass sich die Gesamtkonzentration des zellständigen Chromophors im Messvolumen während der Messzeit nicht ändert.

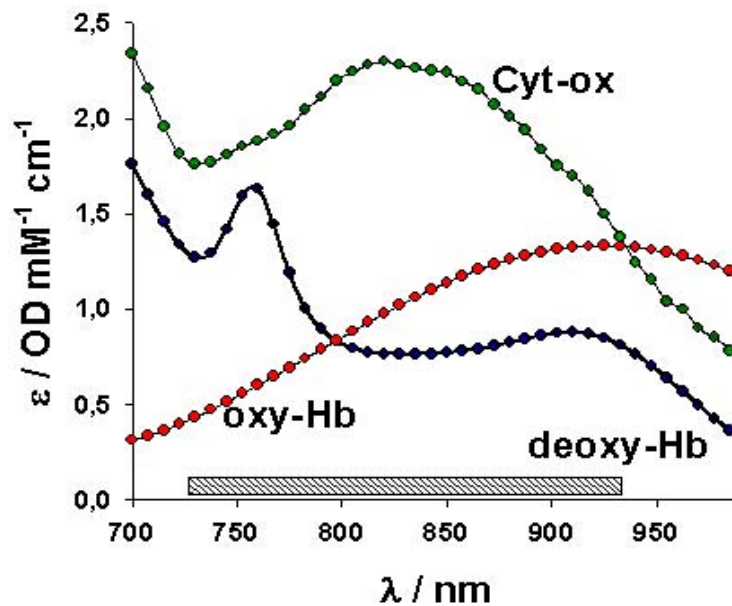


Abb. 2 Absorptionsspektren der Chromophoren oxy-Hb, deoxy-Hb und Cyt-Ox im Nahinfrarotbereich. Der schraffierte Balken stellt den in dieser Arbeit verwendeten Bereich von 725 bis 940 nm dar.

Da das Hämoglobin ausschließlich in den Erythrozyten vorkommt, kann seine Oxygenierung beim Gesunden als sicherer Indikator der Blutoxygenierung gelten, also des *intravasalen* Sauerstoffgehaltes.

Die Cyt-Ox absorbiert nur im oxygenierten Zustand nahinfrarotes Licht [Cope, M. and Delpy, D. T. 1988]. Sie ist als mitochondriales Enzym endständiger Teil der Atmungskette und könnte somit Informationen über die *intrazelluläre* Sauerstoffkonzentration geben.

Das Gesamtabsorptionsspektrum ist also zusammengesetzt aus den einzelnen Extinktionsspektren der drei Chromophoren. Um die einzelnen Farbstoffe in ihrer Konzentration voneinander zu trennen, muss das gemessene Spektrum dekonvolviert werden. Die Konzentrationsänderungen ergeben sich als Multi-Komponenten-Regression der bekannten Extinktionsspektren auf die gemessenen Absorptionsspektren. Die Übereinstimmung ist dabei am größten, wenn alle drei Chromophoren ([oxy-Hb], [deoxy-Hb] und [Cyt-Ox]) in die Regression eingehen. In einer jüngeren Arbeit hat unsere Gruppe die Frage nach der Nachweisbarkeit der Cyt-ox mit einem neuen Ansatz verfolgt. Es zeigt sich, dass das Enzym wahrscheinlich im Rahmen einer Stimulation den Redox-Status ändert, gleichzeitig darf die Schwierigkeit bei der

Bestimmung der Redoxverschiebungen nicht unterschätzt werden, da spektroskopische Artefakte bei der Anwendung des modifizierten Lambert-Beerschen Ansatzes zu einem Überspringen (*Cross-talk*) zwischen den Parametern führen kann [Uludag, K. et al. 2002; Uludag, K. et al. 2004]. Bei der Berechnung der NIRS-Daten dieser Arbeit wird die Cyt-Ox mit eingeschlossen, jedoch aufgrund der potentiellen spektroskopischen Artefakte nicht in den Focus dieser Arbeit gestellt. Der Vollständigkeit halber sei bei der Darstellung des nicht-invasiven NIRS-Ansatzes (Kapitel 3.1.4.2) die Cyt-Ox mit aufgeführt und im Folgenden nicht weiter abgebildet.

3.1.4 Stand der Forschung

3.1.4.1 *Invasive Anwendung*

Die Verwendung optischer Methoden am exponierten Kortex zur Darstellung funktioneller Aktivierung verdeutlicht das große Potential dieses Ansatzes. Die Aktivität einzelner Hirnzellen kann unter Verwendung spannungssensitiver Farbstoffe, die in die Nervenzellmembranen eingebaut werden, dargestellt werden. In der Anwendung am freigelegten Hirngewebe haben optische Methoden eine unerreichte zeitliche (im Millisekundenbereich) und räumliche (nm) Auflösung. Die Entwicklung der optischen Bildgebung ohne Verwendung von Farbstoffen wurde entscheidend von den Gruppen um Grinvald, Blasdel und Frostig weiterentwickelt [Grinvald, A. et al. 1984; Grinvald, A. et al. 1986; Blasdel, G. G. 1989; Masino, S. A. et al. 1993]. Durch die Analyse der so genannten intrinsischen optischen Signale (IOS) im vom Hirngewebe reflektierten Licht ist so die Messung der funktionellen Hirnaktivität auch ohne Trennung in seine physikalischen und physiologischen Bestandteile (Absorption, Streuung, [oxy-Hb], [deoxy-Hb], Streuveränderungen) möglich. Derlei invasiv gewonnene IOS können heute im Bereich des visuellen Kortex als Goldstandard für die funktionelle Kartierung gelten [Blasdel, G. and Campbell, D. 2001].

Elektrophysiologische Methoden erlauben zwar über die Einzelzelleitung per Nadelelektroden ebenfalls eine räumliche Auflösung im mikroskopischen Bereich, die topographische Zuordnung muss jedoch separat erfolgen. Die invasive optische Bildgebung bietet hingegen den Vorteil, praktisch kontinuierlich Kartierungen von kleinsten zu größeren Einheiten zu erlauben. Größere Areale werden funktionell und mit

hoher Auflösung erfasst und die in einem bestimmten Bereich gemessene Aktivierung kann in der funktionellen Karte des beleuchteten Kortexareals mit großer Spezifität räumlich lokalisiert werden.

3.1.4.2 Nicht-invasive Anwendung

Beim Menschen ist die invasive optische Bildgebung nur während neurochirurgischer Eingriffe möglich [Haglund, M. M. et al. 1992; Cannestra, A. F. et al. 2000]. Für die Anwendung bei gesunden Probanden und neurologischen Patienten etwa mit einer zerebralen Ischämie kommt in der Regel nur die *nicht-invasive* Methode in Frage. Dieser Ansatz muss den Einfluss der extrazerebralen Schichten durch Streuung und Absorption mitberücksichtigen und diesen vom eigentlichen zerebralen Signalanteil trennen. Neben dieser makroskopischen Trennung in verschiedene extra- und intrazerebrale Kompartimente sind in allen Geweben grundsätzlich drei verschiedene Prozesse zu berücksichtigen, die zur Veränderung der gemessenen optischen Parameter führen können:

- Intravasal: Veränderung der Hämoglobinoxygenierung
- Intrazellulär: Veränderung des Redox-Zustandes der Cytochrom-Oxidase
- Membranös: Schnelle optische Signale

Veränderung der Hämoglobinoxygenierung

Hämoglobin ist im gesunden Gewebe nur intravasal in den Erythrozyten lokalisiert. Da die oxygenierte und die deoxygenierte Form unterschiedliche Absorptionsspektren haben, lassen sich mit spektroskopischen Messungen einerseits Oxygenierungsänderungen, durch Addition ($[\text{oxy-Hb}] + [\text{deoxy-Hb}] = [\text{gesamt-Hb}]$) andererseits auch Änderungen der Gesamtkonzentration des Blutfarbstoffes bestimmen. Damit liegt bei konstantem Hämatokrit ein Maß für das Blutvolumen (CBV) vor. Eine Messung der Sättigung ist mit der nicht invasiven NIRS nicht ohne weiteres möglich, da nur Änderungen der Konzentrationen des oxy-Hb und deoxy-Hb bestimmt werden ($\Delta[\text{oxy-Hb}]$ und $\Delta[\text{deoxy-Hb}]$). Für das deoxy-Hb gilt aber, dass ein Abfall seiner Konzentration nur erklärbar ist durch eine Beschleunigung der Blutflussgeschwindigkeit, da im Gewebe keine spontane Re-Oxygenierung stattfindet. Weiterhin sei bereits hier darauf hingewiesen, dass die Konzentration des $[\text{deoxy-Hb}]$ im *Voxel* die wichtigste

Einflussgröße für die Stärke des BOLD Kontrastes ist. Damit teilt die NIRS wichtige Parameter, die auch für andere funktionell bildgebende Verfahren von Relevanz sind. Auf die Zusammenhänge wird unter Kapitel 3.2.4 näher eingegangen. Unabhängig von einer solchen Einordnung in ein Modell der neurovaskulären Kopplung konnte in zahlreichen Studien in den letzten Jahren gezeigt werden, dass die Hirnaktivität über die Erfassung der zerebralen Hämoglobinoxygenierung mit der NIRS darstellbar ist [Villringer, A. et al. 1993; Kato, T. et al. 1993; Hoshi, Y. and Tamura, M. 1993; Chance, B. et al. 1993; Maki, A. et al. 1995; Hirth, C. et al. 1996]. Dabei wurde die zerebrale Aktivierung durch unterschiedlichste Stimulationen untersucht: motorische Blockstimulationen [Obrig, H. et al. 1996b; Obrig, H. et al. 1996a; Hirth, C. et al. 1996; Maki, A. et al. 1995], visuelle [Villringer, A. et al. 1993; Kato, T. et al. 1993; Wenzel, R. et al. 1996; Heekeren, H. R. et al. 1997], auditive [Kennan, R. P. et al. 2002a] und somatosensorische Reizung [Tanosaki, M. et al. 2001] sowie Sprachverarbeitung [Kennan, R. P. et al. 2002b; Horovitz, S. G. and Gore, J. C. 2004] und die Bewältigung kognitiver Aufgaben [Villringer, A. et al. 1993; Hoshi, Y. et al. 1994; Chance, B. et al. 1993]. Selbst die komplexkoordinative Abfolge des menschlichen Ganges konnte bereits mit Hilfe der NIRS untersucht werden [Miyai, I. et al. 2001].

Die zu Beginn in den meisten Studien verwendeten Ein-Kanal-NIRS-Systeme wurden bald durch Mehr-Kanal-Systeme ergänzt [Hoshi, Y. and Tamura, M. 1993; Maki, A. et al. 1995; Hirth, C. et al. 1996; Watanabe, E. et al. 1996]. Mittlerweile wird auch der nicht-invasive NIRS-Ansatz als bildgebende Methode eingesetzt (für eine Übersicht über bedeutende Studien mit optischen Imaging-Systemen sei an dieser Stelle auf [Obrig, H. and Villringer, A. 2003] verwiesen).

In jüngeren Studien wurden bei Simultanmessung von NIRS und fMRT motorische „*block-designed*“ Stimulationsparadigmen durchgeführt, um eine Verbesserung der räumlichen Auflösung und Zuordnung der nicht-invasiven optischen Signale zu erreichen, sowohl an gesunden Probanden [Kleinschmidt, A. et al. 1996; Toronov, V. et al. 2001; Strangman, G. et al. 2002], als auch an Schlaganfallpatienten [Kato, H. et al. 2002].

Auch die vorliegende Arbeit nutzt sowohl in der NIRS als auch mit dem BOLD-Kontrast der fMRT Änderungen der kortikalen Oxygenierung zur Darstellung der funktionellen Aktivierung. Aus diesem Grund soll auf den Mechanismus der neurovaskulären Kopplung im Verlauf noch näher eingegangen werden und das Modell der vaskulären Antwort in der Zusammenschau verschiedener Parameter kurz erläutert werden (siehe

auch [Villringer, A. and Dirnagl, U. 1995]).

Veränderung des Redox-Zustandes der Cytochrom-Oxidase

Um Vorgänge der neurovaskulären Kopplung zu verstehen, ist in den letzten Jahren über Mediatoren, Modulatoren und metabolische Prozesse im Tierexperiment eine Fülle von Ergebnissen publiziert worden. Räumliche und spektrale Auflösung der NIRS ermöglichen keine Analyse der metabolischen Kaskaden. Auch erlaubt sich in den wenigsten Fällen die Gabe von Inhibitoren der Mediatoren, wie sie im Tierexperiment gängig ist [Lindauer, U. et al. 1999]. Jedoch bestand die Hoffnung mit der nicht-invasiven Bestimmung des Redoxzustandes der Cytochrom-oxidase einen zellulären Marker der Oxygenierung zu erhalten, und damit potentiell neuro-metabolische und metabolisch-vaskuläre Kopplungsprozesse zu analysieren. Als endständiges Enzym der mitochondrialen Atmungskette stellt die Cytochrom-C-Oxidase (Cyt-Ox) einen Marker für den intrazellulären Energiestatus dar [Cooper, C. E. et al. 1994]. Prinzipiell ist die Erfassung mit nicht-invasiven optischen Methoden möglich, da die Cyt-Ox nur in oxygeniertem Zustand Licht im Nahinfrarotbereich absorbiert [Cope, M. and Delpy, D. T. 1988]. Die Auftrennung des Signals in die Anteile von Hämoglobin und Cyt-Ox ist in der Praxis jedoch problematisch, da sich die Spektren der einzelnen Chromophoren überlagern (*Cross-talk*). Nur mit einem bestimmten Fehler können die bei einer bestimmten Wellenlänge ermittelten Messparameter den entsprechenden Chromophoren zugeordnet werden. Die Genauigkeit der Zuordnung ist insbesondere von der Kenntnis der zurückgelegten Wegstrecke der Photonen in einer bestimmten Schicht abhängig. Für den nicht-invasiven NIRS-Ansatz gibt es bislang keine sichere Methode, die partielle Wegstrecke (*partial pathlength*) der Photonen in einer bestimmten Gewebeschicht zu messen. Damit ergibt sich bei Modellanwendung eine Unsicherheit bezüglich der Validität des Parameters. Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe zeigten zwar eine vorübergehende Zunahme des oxydierten Zustandes der kortikalen Cyt-Ox bei funktioneller Stimulation [Heekeren, H. R. et al. 1999], allerdings haben jüngere Monte-Carlo-Simulationen am Schichtmodell ergeben, dass Absorptionsänderungen durch die Cyt-Ox auch als *Cross-talk* modelliert werden können [Uludag, K. et al. 2002]. In einer rezenten Studie konnten wir im Vergleich zweier visueller Stimuli (blob- versus interblob Regionen) zeigen, dass bei diesem Stimulationsparadigma Veränderungen des Cyt-Ox-Redoxzustandes auch bei Berücksichtigung des potentiellen spektroskopischen *Cross-talks* mit der NIRS bei mehr

als der Hälfte der Probanden nachweisbar waren. Dieses Ergebnis kann allerdings keinesfalls als Garant gelten, die üblicherweise zur Berechnung der Cyt-Ox angewandten Algorithmen zu nutzen, ohne sich über die äußerst kontroverse Diskussion bezüglich der Validität des Parameters bewusst zu sein [Uludag, K. et al. 2004]. Für eine eingehende Erörterung dieser Problematik sei auch auf die Promotionsarbeiten von H. Heekeren [Heekeren, H. R. 1999] und K. Uludag [Uludag, K. 2002] verwiesen, da die vorliegende Arbeit die angeschnittene Fragestellung nicht näher thematisiert.

Schnelle optische Signale

Neben der Cyt-Ox als einem Marker für die metabolische Antwort auf eine funktionelle Stimulation ist in den letzten Jahren von einer amerikanischen Gruppe eine Anzahl von Publikationen erschienen, die ‚schnelle optische Signale‘ nicht-invasiv am Menschen beschreiben. Hintergrund ist die aus invasiven Untersuchungen bekannte Tatsache, dass sowohl an isolierten Neuronen als auch im freigelegten Hirngewebe optische Signaländerungen bekannt sind, die sich zeitlich parallel zu der elektrophysiologischen Antwort entwickeln. Ursache dieser optischen Änderungen sind wahrscheinlich strukturelle Veränderungen oder Änderungen der Ionen- und Wasserverteilung im Rahmen der elektrophysiologischen Reizfortleitung. Während diese schnellen optischen Signale invasiv als gesichert gelten, ist der nicht-invasive Ansatz bisher kontrovers. Gratton und Kollegen untersuchten die Veränderung der optischen Pfadlängen an Hand eines phasenmodulierten NIRS-Systems mit einer zeitlichen Auflösung von 50 ms. Sie beschrieben eine vorübergehende Zunahme der von den Photonen zurückgelegten Pfadlänge im occipitalen Kortex mit einem Maximum 100 ms nach visueller Stimulation [Gratton, G. et al. 1995]. Es schien gerechtfertigt, da eine Änderung der Chromophorenkonzentration innerhalb dieser Zeitspanne unwahrscheinlich ist, eine Veränderung der Streueigenschaften der Nervenzellen selbst anzunehmen, ähnlich dem von Stepnoski und Kollegen vorbeschriebenen Phänomen an isolierten Nervenzellen [Stepnoski, R. A. et al. 1991; Rector, D. M. et al. 1997]. Der Nachweis der schnellen optischen Signale beim Menschen ist jedoch umstritten. Bislang konnten diese Befunde von anderen Arbeitsgruppen nicht reliabel reproduziert werden. Die Arbeiten unserer Gruppe zu dieser Fragestellung lassen den sicheren Nachweis der schnellen optischen Signale nicht zu [Steinbrink, J. et al. 2005]. Sowohl die Monte-Carlo-Simulation als auch experimentelle Untersuchungen am Erwachsenen lassen

vermuten, dass bei den derzeitigen technischen Voraussetzungen das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in der nicht-invasiven NIRS-Anordnung beim Erwachsenen zu gering ist für einen sicheren Nachweis dieser Signale. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden diese schnellen optischen Signale nicht weiter thematisiert, da das hier verwendete NIRS-Setup sicherlich nicht geeignet ist, die sehr kleinen Änderungen reliabel zu detektieren. Erwähnt werden sie an dieser Stelle, da ein nachweisbares schnelles optisches Signal im Magneten die Perspektive einer störungsfreien Koregistrierung elektrophysiologischer und vaskulärer Signale erlauben würde.

3.2 Die funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie (fMRT)

Die fMRT diente für den zweiten Teil dieser Arbeit als Referenzmethode für den Vergleich mit der NIRS. Im Folgenden werden ihre Entwicklung, physikalischen Grundlagen und Anwendung kurz erläutert.

3.2.1 Entwicklung und Geschichte der fMRT

Purcell und Bloch entdeckten unabhängig voneinander das Phänomen der Magnetischen Resonanz im Jahre 1946 [Purcell, E. M. et al. 1946; Bloch, F. et al. 1946], wofür beide 1952 den Nobel-Preis für Physik erhielten. Im Folgenden wurde die Magnet-Resonanz zur molekularen Analyse in Chemie und Physik verwendet. Es sollten 30 Jahre vergehen, bis Damadian zeigte, dass sich die nukleare magnetische Relaxationszeit von Tumor- und gesundem Gewebe unterschied, und damit die Magnet-Resonanz in der Medizin Verwendung fand [Damadian, R. 1971].

Mit der Einführung der Computer-Tomographie (CT) durch Hounsfield [Hounsfield, G. N. 1973] zeichnete sich ab, dass Krankenhäuser bereit sind, auch extrem große Summen für bildgebende Techniken zu investieren und so auch andere bildgebenden Verfahren im klinischen Alltag realisierbar wurden. Im selben Jahr demonstrierte Lauterbur die erste Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) an Deuterium-gefüllten Glaskapillaren [Lauterbur, P. C. 1973] wobei er ähnlich wie in der CT eine Rückprojektionstechnik verwendete. 1975 schlug Ernst die Verwendung von Phasen- und Frequenzkodierung und der Fourier-Transformation für die MRT vor [Kumar, A. et al. 1975]. Diese Technik wurde von Edelstein und Kollegen erfolgreich aufgegriffen [Edelstein, W. A. et al. 1980] und bildet bis heute die Grundlage der MRT.

Mit der Entwicklung schnellerer und stärkerer Gradientensysteme waren die Grundlagen für schnelle Gradientenechosequenzen geschaffen [Evans, A. J. et al. 1987]. Eine entscheidende Verbesserung erfuhr die MRT durch Mansfield, der mit der Entwicklung des Echo-Planar-Imaging (EPI) die Akquisitionszeit eines Bildes von anfänglich mehreren Minuten in den Bereich von Millisekunden verkürzen konnte [Stehling, M. K. et al. 1991]. Mit Hilfe schneller Bildfolgen konnten nun Sequenzen von Signaländerungen aufgezeichnet und physiologische Organfunktionen sichtbar gemacht werden.

3.2.2 Physikalische Grundlagen der fMRT

Die MRT beruht auf den intrinsischen magnetischen Eigenschaften von Protonen und Neutronen. Sie besitzen einen Eigendrehimpuls, den so genannten „Spin“, der sich wie ein Dipolmoment verhält und entweder positiv oder negativ ausgerichtet ist. Die Spins aller Nukleonen eines Atomkernes summieren sich. Nur Atomkerne mit ungerader Anzahl an Nukleonen haben ein Spin $\neq 0$ und können sich in einem starken magnetischen Feld (B_0) entsprechend ihres Dipolcharakters ausrichten. Die Summe der Dipolmomente der einzelnen Kernspins eines Volumens (Voxel) ergeben die gemeinsame Magnetisierung M_z .

Durch Absorption eines elektromagnetischen Energiequants mit einer bestimmten Frequenz kann der Kernspin seine Orientierung ändern. Die Frequenz der Welle ist dabei abhängig von der gyromagnetischen Ratio γ des Kerns. Jedes Isotop hat daher eine intrinsische, so genannte Resonanz- oder Larmor-Frequenz. Einem magnetischen Feld ausgesetzt, beschreibt der Kernspin eine kreiselartige Präzessionsbewegung um die Achse des Magnetfeldes. Die Umlauffrequenz dieser Präzessionsbewegung ist wiederum abhängig von der Larmor-Frequenz des Isotops und der Stärke des Magnetfeldes.

Für die Untersuchung biologischer Gewebe nutzt man in erster Linie den Kernspin des Wasserstoffs, also einzelner Protonen. Diese werden durch eine senkrecht zum äußeren Magnetfeld B_0 stehenden Spule angeregt, indem eine Radiowelle ihrer Resonanzfrequenz durch das Gewebe geschickt wird. Dadurch richten sich die Kernspins schlagartig in einer transversen Ebene M_{xy} senkrecht zu M_z aus. Direkt nach Anregung durch die elektromagnetische Welle besitzen alle Spins die gleiche Phase

und ihre maximale Amplitude und kehren allmählich wieder in ihre ursprüngliche Ausrichtung zurück. Diese Auslenkung induziert einen Strom in der Spule, der entsprechend der Rückkehr der Spins in die Ausgangsebene in der Amplitude abnimmt und auf der Larmor-Frequenz oszilliert. Die Abnahme der Amplitude wird als „*free induction decay*“ (FID) bezeichnet und stellt das eigentliche Magnetresonanzsignal dar. Die Wiederherstellung der Magnetisierung M_z entlang des äußeren Magnetfeldes B_0 wird durch die Zeitkonstante T_1 definiert. Der Abfall der transversen Magnetisierung FID wird von der Zeitkonstante T_2 , auch transverse Relaxationszeit genannt, bestimmt. Zusätzlich führen molekulare Interaktionen und lokale Magnetfeldinhomogenitäten zu heterogenen Resonanzfrequenzen und einem beschleunigten Verlust der Phasenkohärenz. Diese Inhomogenitäten entstehen unter anderem durch die lokale Zerstörung der Magnetfeldgradienten durch eine unterschiedliche Magnetisierbarkeit verschiedener Moleküle und können von paramagnetischen Kontrastmitteln verstärkt werden. Die Kombination von T_2 und der inhomogenen Relaxationszeit führt zur effektiven Relaxationszeit T_2^* , die alle Sequenzen zur Darstellung des BOLD-Kontrastes nutzen.

3.2.3 Stand der Forschung

Durch die Weiterentwicklung der MRT in den letzten Jahrzehnten stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, die neuronale Aktivität darzustellen. So kann etwa die synaptische Signaltransduktion und mithin die neuroelektrische Kopplung - bislang ausschließlich im Tiermodell - durch Einschleusen von Mn^{2+} dargestellt werden [Takeda, A. et al. 1998], [Pautler, R. G. et al. 2003].

Die funktionelle Untersuchung beim Menschen fußt auf der neurovaskulären Kopplung (siehe Kapitel 3.3). Hierzu werden im Wesentlichen drei unterschiedliche Methoden zur Kontrastgewinnung der Blutflussantwort eingesetzt. Die Applikation eines exogenen intravasalen Kontrastmittels (Gadolinium) und die Verwendung von perfusionsgewichteten Sequenzen zur Auslesung des Resonanzsignals finden in der vorliegenden Arbeit keine Verwendung, für eine Übersicht sei deshalb auf eine ausführliche Darstellung von Villringer und Dirnagl verwiesen [Villringer, A. and Dirnagl, U. 1995]. Eine dritte Methode nutzt das deoxygenierte Hämoglobin als endogenes intravasales Kontrastmittel und wird im folgenden Kapitel näher dargestellt.

3.2.4 Der BOLD-Kontrast

Im Jahre 1990 beschrieb Ogawa im Maus- und Rattenhirn einen Kontrast, der in Abhängigkeit vom Sauerstoffgehalt variierte [Ogawa, S. et al. 1990b]. Dieser Effekt beruht auf der paramagnetischen Eigenschaft des reduzierten Fe^{3+} -Ions im deoxygenierten Hämoglobin, während sich oxygeniertes Hämoglobin diamagnetisch verhält. Somit ließ sich das deoxygenierte Hämoglobin als ein endogenes Kontrastmittel nutzen. Paramagnetische Kontrastmittel erhöhen die Suszeptibilität. In T2- und T2*-gewichteten Sequenzen führt eine Steigerung der Suszeptibilität zu einer Signalabschwächung. Ein Absinken des deoxygenierten Hämoglobins steigert somit die Signalintensität, weshalb dieser Kontrast als *Blood-Oxygenation-Level-Dependent-* (BOLD-) Kontrast bezeichnet wird [Ogawa, S. et al. 1990a; Frahm, J. et al. 1992].

Die BOLD-Kontrast-fMRT darf als die am weitesten verbreitete Technik zur funktionellen bildgebenden Darstellung von Hirnfunktionen gelten, weil sie trotz hohen technischen und finanziellen Aufwandes relativ einfach zu praktizieren ist. Durch immer stärkere Gradientensysteme und Rechnerleistungen wird eine immer bessere räumliche Auflösung erreicht, die im Hochfeld-MRT mit 7 Tesla zurzeit im Submillimeterbereich liegt [Yacoub, E. et al. 2003].

Ein weiterer Vorteil besteht darin, dass der BOLD-Kontrast im Gegensatz zu einem exogenen paramagnetischen Kontrastmittel nicht durch eine Höchstdosis limitiert ist. Außerdem muss nicht ein kompletter arteriovenöser Zyklus durchlaufen werden, um eine vollständige Sequenz zu erstellen. Die zeitliche Auflösung ist daher deutlich höher und bewegt sich im Bereich von etwa 1s, wobei schnellere Sequenzen für einzelne Schichten genutzt werden (bis 250ms). Bei Überlegungen zur zeitlichen Auflösung muss allerdings berücksichtigt werden, dass diese auch durch die Reaktion der neurovaskulären Antwort auf eine gesteigerte neuronale Aktivierung, der so genannten neurovaskulären Kopplung, begrenzt wird. Die vaskuläre Antwort ist im Vergleich zur elektrophysiologischen Antwort träge und liegt im Bereich von Sekunden.

3.3 Die neurovaskuläre Kopplung

Bereits 1890 postulierten Roy und Sherrington, dass das Gehirn einen intrinsischen Mechanismus besitze, durch den lokale Änderungen der funktionellen Aktivität mit lokalen Änderungen der vaskulären Versorgung korrespondieren. [Roy, C. and Sherrington, C. 1890]. Obwohl dieses Phänomen der „neurovaskulären Kopplung“ insbesondere seit der Einführung der funktionell bildgebenden Verfahren wie fMRT und PET ins Zentrum des wissenschaftlichen Interesses gerückt ist, gibt es bislang kein einheitliches Modell. Sherrington ging bereits davon aus, dass die erhöhte Neuronenaktivität den lokalen Metabolismus und damit den Sauerstoffverbrauch der Nervenzellen steigert und bestimmte Stoffe aus dem Metabolismus der Nervenzellen auf die Gefäße einwirken.

Die heutigen Ansätze haben diese Sichtweise in verschiedenen Theorien erweitert und modifiziert. Neben der ausreichenden Sauerstoffversorgung des Gewebes auch bei erhöhter Blutflussgeschwindigkeit [Buxton, R. B. and Frank, L. R. 1997] beruhen andere Ansätze auf der Annahme eines erhöhten Umsatzes von Glukose, Laktat und Glutamat in Neuronen und Astrozyten [Magistretti, P. J. et al. 1999] und ihr vermehrter Transport zwischen diesen Zellen [Magistretti, P. J. 2000]. Mediatoren wie NO, pH-Milieu, Adenosin, möglicherweise auch direkte intrinsische Innervation [Lou, H. C. et al. 1987]) führen zu einer arteriolären Vasodilatation in den aktivierten Hirnarealen mit konsekutiver Zunahme des regionalen zerebralen Blutflusses (rCBF) und des regionalen zerebralen Blutvolumens (rCBV). Trotz des enormen Zuwachses an Wissen über Mediatoren, Energiebedarf und der vaskulären Anatomie des Kapillarbettes bleiben einige grundlegenden Fragen kontrovers. Zum einen ist die Frage unbeantwortet, warum die vaskuläre Antwort vergleichsweise träge ist. Warum etwa ein visueller Stimulus von einer Sekunde Dauer eine Blutflussantwort hervorruft, die ungefähr 5 Sekunden nach Stimulusbeginn ihr Maximum erreicht. Um diese zeitliche Dispersion der elektrophysiologischen und der vaskulären Antwort zu verstehen, wird zunehmend die Frage nach dem ‚richtigen‘ elektrophysiologischen Prädiktor der vaskulären Antwort thematisiert [Logothetis, N. K. et al. 2001]. Auch ist die Frage unbeantwortet, wie viel und ob die neuronale Zelle wirklich mehr Energie benötigt, wenn sie einen Stimulus prozessiert [Attwell, D. and Laughlin, S. B. 2001]. Trotz dieser ungelösten Fragen steht fest, dass die vaskuläre und elektrophysiologische Antwort

räumlich und auch zeitlich eng korreliert sind. Die Reaktion der Gefäße ist zudem so ausgeprägt, dass es bei einer Aktivierung zu einer überschießenden Durchblutungssteigerung kommt. Fox und Raichle konnten 1986 in einer Studie mit der PET zeigen, dass die Metabolismusrate des Sauerstoffs ($rCMRO_2$) im somatosensorischen Kortex unter Stimulation um etwa 5% ansteigt, während der rCBF um ca. 30% zunimmt [Fox, P. T. and Raichle, M. E. 1986].

Untersuchungen mit der NIRS zeigen, dass es durch die Zunahme von rCBF und rCBV und damit des [gesamt-Hb] letztlich zu einem Überangebot an Sauerstoff kommt. Typischerweise findet man also einen Anstieg von [gesamt-Hb] und [oxy-Hb], während das [deoxy-Hb] absinkt.

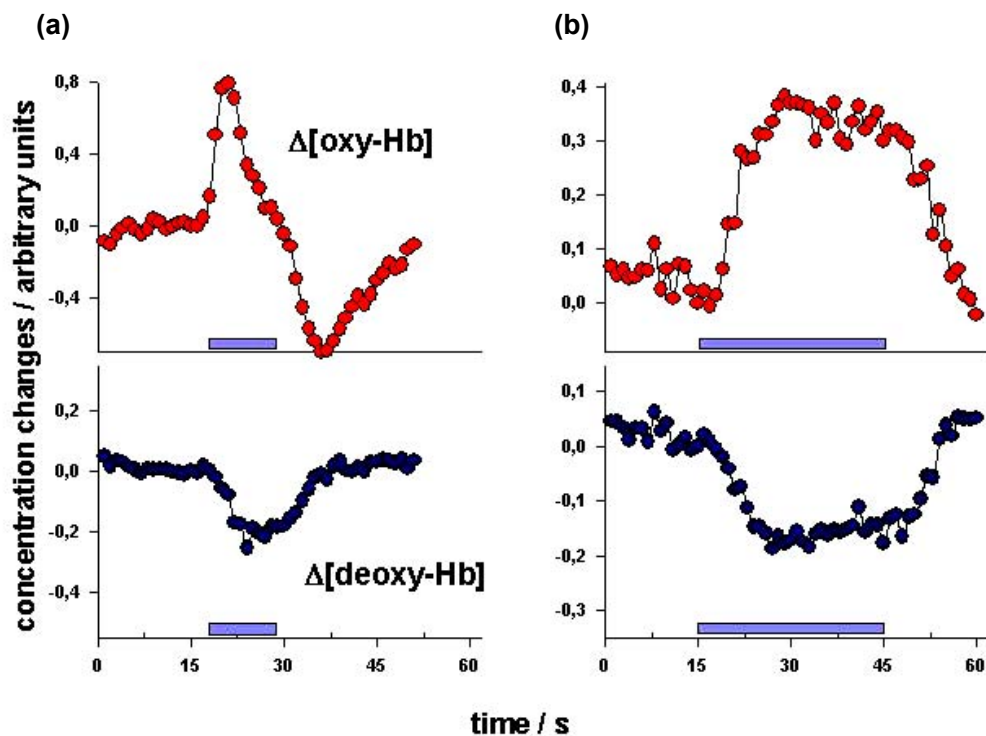


Abb. 3 Typische Verläufe von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] auf motorische (a) und visuelle (b) Stimulation Die Dauer der Stimulation ist durch den blauen Balken dargestellt. [Obrig, H., Wenzel, R., Kohl, M. et al. Near-infrared spectroscopy: does it function in functional activation studies of the adult brain? Int J Psychophysiol 2000, 35: 125-142.]

Einige Sekunden nach Reizapplikation erreichen die Verläufe der Blutparameter ein Plateau bzw. bei kurzen Reizen ein Maximum, um nach Beendigung der Stimulation

innerhalb von 10 bis 15 Sekunden wieder auf den Ausgangswert zurückzukehren. Besonders das [deoxy-Hb] stellt einen stabilen Indikator der vaskulären Reaktion dar [Obrig, H. et al. 2000]. Abb. 3 zeigt typische Verläufe von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb], wie sie sich in der NIRS darstellen.

3.4 Neuroanatomische Grundlagen

Für die Untersuchung wurde ein experimentelles motorisches Modell von Fingerbewegungen gewählt, da die bei der Durchführung einer willkürlichen Bewegung aktiven Areale des Kortex für die NIRS sehr gut zugänglich sind und von keinen größeren Blutleitern überlagert werden. Durch Einzelstimulationen lässt sich eine große Anzahl an Signalepochen erzielen.

3.4.1 Der motorische Kortex

Die Willkürmotorik wird vom primärmotorischen Kortex – der Area 4 nach Brodmann – gesteuert, der im Gyrus praecentralis des Frontallappens lokalisiert ist. Von hier laufen die Axone des 1. Motoneurons über die kortikospinalen Fasern hinab ins Rückenmark, nachdem sie in der Decussatio pyramidis zu etwa 80% auf die Gegenseite gekreuzt sind. Der primärmotorische Kortex (M1) ist somatotop organisiert, das für die Finger kodierende Areal liegt im Bereich der omegaförmigen Rekurvation des Gyrus praecentralis (Abb. 4). Neben Zuflüssen aus somatosensorischen Regionen und dem Thalamus erhält M1 Afferenzen aus den prämotorischen Areae 6 und 8 (M2) und dem supplementärmotorischen Rindenareal (SMA). Letztere Areale sind insbesondere für die Planung und Ausführung von komplexen Bewegungen, etwa schnell alternierende Fingerbewegungen, verantwortlich. Einfache ballistische Einzelbewegungen können dagegen von der Area 4 alleine kontrolliert werden [Roland, P. E. et al. 1980]. In der vorliegenden Arbeit wurde eine sehr einfache motorische Aufgabe (kurzer, kräftiger Tastendruck des Digitus index) genutzt. Man kann davon ausgehen, dass die Beiträge der prämotorischen Rindenareale vergleichsweise gering sind. Eine genaue Differenzierung ist jedoch bei der geringen räumlichen Auflösung der NIRS nicht sicher möglich. In der fMRT zeigte sich in einzelnen Studien eine wahrscheinlich hierarchisch der M1 übergeordnete Aktivierung der SMA [Vidal, F. et al. 1995; Weilke, F. et al. 2001; Wiese, H. et al. 2004], die sich jedoch aufgrund ihrer topographischen Lage der

räumlichen Erfassung durch die NIRS entzog.

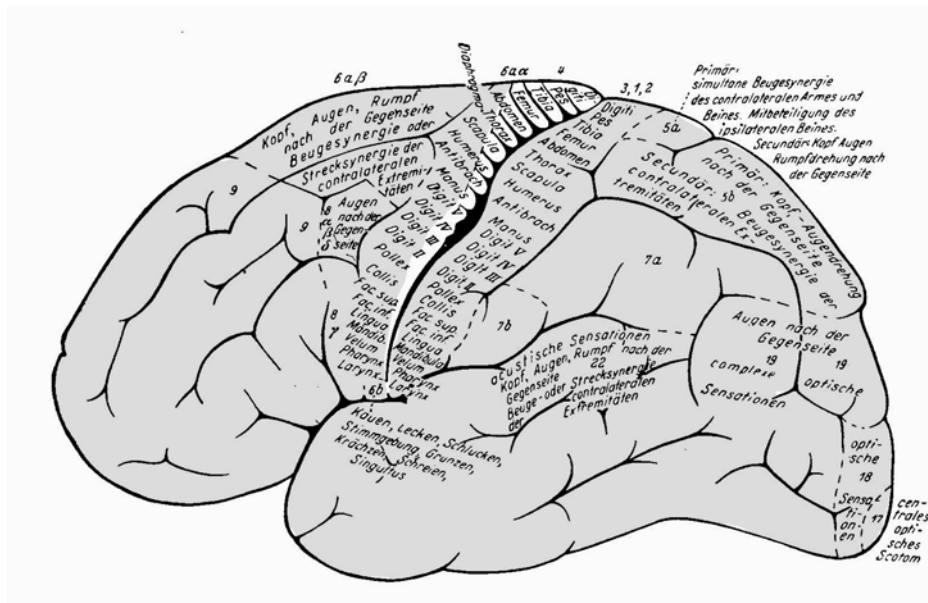


Abb. 4 Übersicht über die motorischen Rindenareale und die entsprechenden Effekte bei elektrischer Reizung. In weiß hervorgehoben ist die Area 4 nach Brodmann, der primärmotorische Kortex (P. Duus: Abb 8.18, Neurologisch-topische Diagnostik, 6. überarb. Aufl. Stuttgart, New York, Thieme 1995; Original aus O. Foerster: Großhirn. Handbuch der Neurologie, Bd. VI. hrsg. von O. Bumke, O. Foerster. Springer® Berlin 1936).

4 Die Studien dieser Arbeit

Das folgende Kapitel schildert die Versuchsanordnung. Hierbei wird das NIRS-System zur Messung kortikaler Oxygenierung in größerem Detail behandelt, da es sich nicht um eine Standardtechnik handelt. Es wird die Datenanalyse beschrieben und das Stimulationsparadigma illustriert. Anschließend werden die beiden Studien im Einzelnen dargelegt.

4.1 Der NIRS-Aufbau

4.1.1.1 Lichtquelle und Detektorsystem

Als Lichtquelle diente eine Halogenlampe, die ‚weißes Licht‘ emittiert (kontinuierliches Spektrum, 400 – 1100 nm). Das Licht wurde durch Filter auf einen Wellenlängenbereich von 720 bis 920 nm begrenzt, um die Gewebserwärmung durch Absorption in der Haut zu minimieren. Ein 5 mm starkes Glasfaserkabel (Emitter-Optode) leitete das Licht zum Kopf des Probanden. Ein zweites, 3 mm starkes Glasfaserkabel (Detektor-Optode) leitete das Licht vom Probanden zum Spektrograph (SpectraPro-275, Acton Research, Acton Massachusetts, USA), das dort nach den Spektralbereichen (700 – 1000 nm) aufgelöst und anschließend von einem CCD-Chip (*charged coupled device*, Princeton Instruments, Trenton New Jersey; USA) mit einer Auflösung von 1024 x 256 Pixeln detektiert wurde. Auf diesem Chip sind in horizontaler Richtung (1024 Pixel) die spektralen Informationen, also die Wellenlängen, repräsentiert, während er vertikal in zwei Bereiche von je 125 Pixeln für zwei getrennte Kanäle aufgeteilt ist. Die zeitliche Auflösung war durch die Auslesezeit pro Spektrum determiniert und betrug 20 ms. Die effektive spektrale Bandbreite des Spektrographen war durch die Spaltbreite der Eintrittsöffnung von 20 nm bestimmt.

4.1.1.2 Halterung und Anbringung der Optoden

Je eine Emitter- und Detektor-Optode wurden durch passgenaue Löcher im Abstand von 30 mm in 6 x 3 x 0,5 cm messenden Kunststoffplatten fixiert, die mit elastischen Binden am Kopf der Probanden fixiert wurden. Die Kunststoffplatten wurden der individuellen Kalottenkrümmung angepasst, um einen Lichteinfallswinkel von 90° zu gewährleisten.

Die Optodenpaare waren entsprechend dem internationalen 10-20-System der Elektroenzephalographie (EEG) angebracht, so dass jeweils der Mittelpunkt zwischen Emitter- und Detektoroptode C3, respektive C4, entsprach. Diese Punkte korrespondieren mit der Kreuzung des Sulcus centralis und der Vertex-Präaurikular-Linie [Steinmetz, H. et al. 1989] und projizieren sich auf jene Bereiche der Area 4, die das Handareal und damit auch die Fingermuskeln repräsentieren.

Zur Bestimmung von C3 und C4 wurde das erste Drittel der Vertex-Präaurikular-Linie markiert und die Optoden in transversaler Ausrichtung in 30 mm Abstand voneinander und mittig über der Markierung fixiert. Abb. 5 zeigt eine Skizze der Optoden am Kopf eines Probanden.

Durch diese Anordnung waren für rechte und linke Stimulationen jeweils ipsi- und kontralaterale Antworten zu erheben. Um ein Dislozieren der Lichtleiter nach dem Anbringen durch unwillkürliche Bewegungen zu verhindern, wurde der Kopf des Probanden in bequemer Lage mit elastischen Binden an der Kopflehne des Stuhls fixiert.

Für die zweite Studie war jede Kunststoffplatte zusätzlich mit drei fetthaltigen, T1-signalgebenden Vitamin-E-Kapseln versehen (*Fiducials*), um die genaue Lokalisation der nichtmagnetischen Optoden in der MRT nachvollziehen zu können. Um Ungenauigkeiten bei der Bestimmung der Lokalisation der primärmotorischen Rinde durch die äußeren Landmarken zu vermeiden, diente ein extra zu diesem Zweck angefertigtes Netz aus 26 *Fiducials* (Adalat®-Kapseln) als Koordinatensystem zur individuellen Bestimmung der Projektion von M1 auf die Kopfoberfläche (siehe Abb. 5).

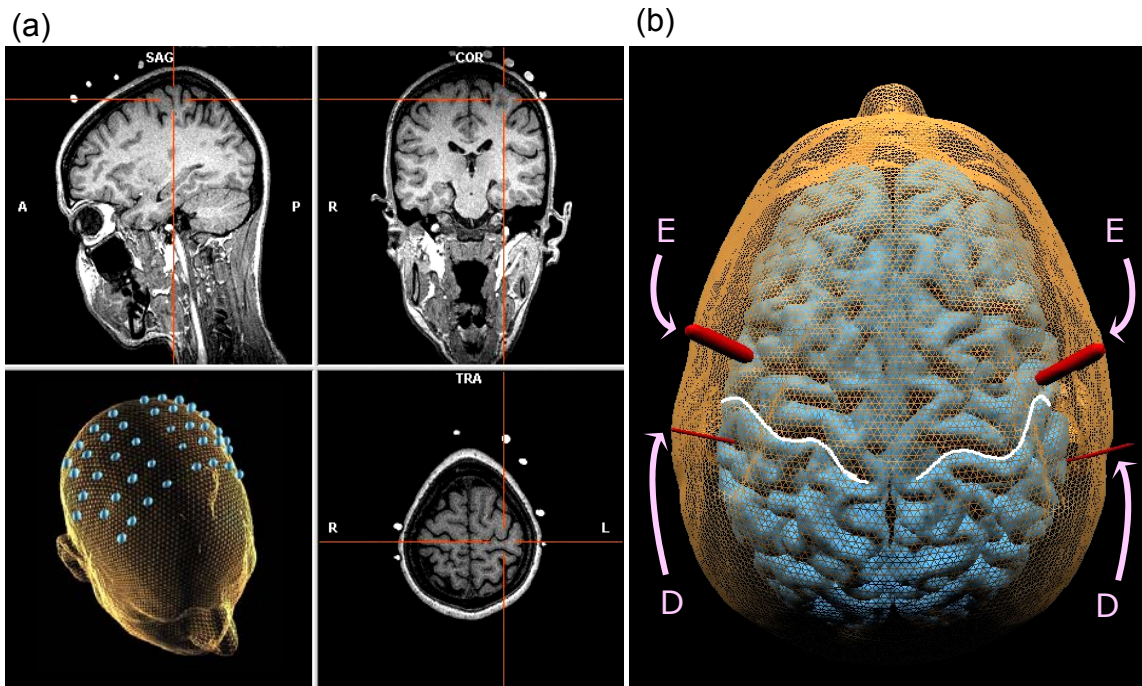


Abb. 5 Darstellung der MPrage mit *Fiducial*-Koordinaten zur Identifizierung der korrespondierenden Position auf der Kopfoberfläche mit dreidimensionaler Schichtung und 3D-Rekonstruktion (a). Anhand dieses ersten Koordinatendatensatzes konnte die Positionierung der NIRS-Optoden individuell in Projektion auf das Handareal in der omega-förmige Windung des Gyrus centralis erfolgen. Rechts ist die 3D-Rekonstruktion der Optoden aus dem MRT-Datensatz eines Probanden dargestellt (b), die Emitter-Optode (E) ist 3 cm rostral der Detector-Optode (D) angebracht, der Sulcus centralis ist weiß markiert.

4.1.1.3 Aufzeichnung des kapillären Blutdruckes

Zur Registrierung von systemischen hämodynamischen Änderungen wurde der kapilläre Blutdruck nicht-invasiv und kontinuierlich an der Fingerkuppe gemessen (2300-Finapres-Blutdruckmonitor, Ohmeda Medizintechnik, Puchheim, Deutschland). In einer 2 cm breiten Manschette, die an der Fingerbeere des kleinen Fingers befestigt wird, befindet sich ein Luftkissen, in dem ein kontinuierlicher pneumatischer Gegendruck zum kapillären Pulsdruck aufgebaut wird. Das Gerät registriert die durch die Pulscurve hervorgerufenen Druckänderungen im Luftkissen. Die Manschette war am 5. Finger der linken Hand der Probanden befestigt, um etwaige Artefakte bei der Bewegung des Zeigefingers zu reduzieren.

4.1.2 Registrierung der motorischen Antwort

Die Messungen fanden in einem abgedunkelten, schallgedämmten Raum statt. Die Probanden saßen entspannt in einem Armsessel, beide Unterarme auf den Armlehnen ruhend. Im Abstand von 1,5 m vor ihnen stand ein herkömmlicher 15''-Monitor zur Präsentation der Stimuli.

Zur Registrierung der motorischen Stimuli diente eine zu diesem Zweck eigens modifizierte Computertastatur. In entspannter Lage der Hände ruhten die Zeigefinger der Probanden jeweils auf einer Taste. Der geringe Tastenwiderstand und die entspannte Lage gewährten eine minimale Muskelakquirierung für die schnellende Bewegung des 2. Fingers. Der Tastendruck wurde über einen Analog-Digital-Wandler zusammen mit den Auslesezeitpunkten des CCD-Chips auf einer Festplatte gespeichert (Spike2-Software, Cambridge Electronic Design, Cambridge, England). Diese *events* wurden zur späteren Auswertung der Nahinfrarotspektren genutzt.

Zur Aufzeichnung und Auswertung der Daten dienten folgende Programme: WinSpec 1.6.2 (Princeton Instruments, Trenton New Jersey; USA) zur Aufzeichnung der Spektren, Spike2 (Cambridge Electronic Design, Cambridge, England), Matlab (Math Works, Natick, MA, USA) zur Berechnung der Konzentrationsänderungen und Sigmaplot (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) für die graphische Darstellung.

4.2 Aufbau der NIRS-fMRT-Simultanmessung

Für die Erhebung der fMRI-Daten stand ein 1,5 Tesla Scanner (Siemens Vision, Erlangen, Deutschland) zur Verfügung. Zu Beginn einer Sitzung wurde jeweils eine dreidimensionale hochauflösende T1-gewichtete Sequenz (*Magnetization prepared rapid aquisition gradient echo, Mprage*) angefertigt, um die topographischen Zuordnung der M1-Regionen zur Kopfoberfläche vollziehen zu können ($TR/TE/\alpha = 9,7ms/4ms/12^\circ$; 256 X 256 Matrix [1mm³ isovoxel = 25,6 X 25,6 cm FoV], 170 Schichten).

Für eine erste *Mprage* trugen die Probanden das Koordinatennetz. Anschließend wurden die Probanden wieder aus dem Magneten herausgefahren und die Optoden mit Hilfe der ermittelten Position befestigt. Zur Rekonstruktion der Position der Optoden waren diese ebenfalls mit *Fiducials* markiert. Der Kopf des Probanden wurde mit einem

Vakuumpissen und lateralen Stabilisatoren fixiert, um Bewegungsartefakte zu minimieren. Anhand einer zweiten *Mprage*-Sequenz (s.o.) wurden die Schichten für die funktionelle Messung orientiert. Diese diente zugleich der späteren 3D-Rekonstruktion der funktionellen BOLD-Kontrast-Aktivierung und Lokalisation der NIRS-Messpunkte mittels der *Fiducials* der Optoden (siehe hierzu Kapitel 4.4.3).

Für die funktionellen Aufnahmen wurde eine BOLD-sensitive T2*-gewichtete *Echo-planar-imaging* (EPI-) Sequenz (TR/TE/ α = 1090ms/60ms/90°, FoV = 256 X 256mm, 64 X 64 Matrix, Schichtdicke 4mm, Zwischenraum 1mm, 600 Aufnahmen) verwendet. Jede funktionelle Aufnahme bestand aus fünf Schichten, die in transversaler Ausrichtung durch die commissura anterior et posterior gelegt wurden (ACPC-Ebene).

4.3 Das Stimulationsparadigma

In der ersten Studie wurde die Stimulation visuell über einen Computermonitor getriggert. Ein grünes Kreuz markierte eine initiale Ruhephase von drei Minuten, gefolgt von einem orangefarbenen „R“ oder „L“ als Warnstimulus für die rechte bzw. linke Fingerbewegung. Nach jedem Warnstimulus wurde für eine Sekunde ein grünes Kreuz als Ausführungsstimulus gezeigt. Um harmonische Überlagerungen der vaskulären Antworten zu vermeiden, wurde die Dauer des Warnstimulus in pseudorandomisierter Reihenfolge variiert, sodass sich ein Interstimulusintervall (ISI) von 8, 10 und 12 Sekunden ergab. Es wurden je Sitzung 72 Stimulationszyklen aufgezeichnet.

Für die 2. Studie wurde wegen des weitaus geringeren technischen Aufwandes eine akustische Triggerung durchgeführt. Die Probanden trugen als Lärmschutz Kopfhörer, über die sie die Aufforderung zur Ausführung des jeweiligen Tastendruckes mitgeteilt bekamen. Bei der gewählten TR und aufgrund der begrenzten Speicherkapazität der MRT-Recheneinheit konnten je Proband 38 Zyklen aufgezeichnet werden.

4.4 Datenanalyse

Die Berechnung und Auswertung der NIRS-Daten verlief in beiden Studien nach gleichem Algorithmus. Diese Analyseschritte werden zuerst dargelegt. Im Anschluss folgt eine Erläuterung der fMRT-Datenanalyse und der Vergleich mit den optischen Daten.

4.4.1 Berechnung der NIRS-Daten

Die Konzentrationsänderungen der einzelnen Chromophore wurde anhand einer multiplen linearen Regressionsanalyse über 740-900 nm mit drei Komponenten (oxy-Hb, deoxy-Hb und Cyt-Ox [Obrig, H. et al. 2000]) berechnet. Eine Glättung der Rohdaten in Form eines *gliding averages* über jeweils 5 Aufnahmespektren wurde zur Reduzierung von Artefakten durchgeführt. Für die Darstellung der ereignisbezogenen Zeitverläufe der Konzentrationsänderungen wurden die Stimulationszyklen über insgesamt 20 Sekunden gemittelt, beginnend 5 Sekunden vor dem jeweiligen Tastendruck als Ruhephase.

Für die statistische Auswertung der Antwortgröße wurden jeweils die Werte von [oxy-Hb], und [deoxy-Hb] und des systemischen Blutdrucks 3 bis 5 Sekunden nach Stimulus gemittelt, ein *grand average* über alle Probanden gebildet und mit den zugehörigen Ruhephasen verglichen (Wilcoxon-Test).

In Studie 2 wurde zusätzlich ein Lateralisierungsindex der Signalantwort von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] gebildet, indem die Differenz der Antwortgröße bei jeweils kontralateraler und ipsilateraler Stimulation in Bezug gesetzt wurde zur kontralateralen Antwortgröße (t-Test).

4.4.2 Berechnung der fMRT-Daten

Für die Auswertung der fMRT-Daten stand die Software 'BrainVoyager' (Brain Innovations B.V., Maastricht, Niederlande) zur Verfügung.

Zur Fusion der funktionellen mit den anatomischen Daten diente die zweite *Mprage*-Sequenz, woraus jeweils ein individueller dreidimensionaler Volumen-Datensatz

generiert wurde. Die erste Aufnahme jeder funktionellen T2*-Sequenz (5 Schichten) wurde durch bilineare Interpolation in eine hochauflösende (256 X 256) anatomische Aufnahme konvertiert. Anhand dieses *dummy* konnte der funktionelle Block in den 3D-Volumen-Datensatz eingepasst werden. Für die Auswertung der Reizantworten wurden die ersten fünf Aufnahmen jeder funktionellen Serie verworfen, um die Signalaufsättigung zu eliminieren. Die funktionellen Blöcke wurden zunächst einer räumlichen und zeitlichen Glättung (Standardabweichung bei Normalverteilung 4mm/3Hz) und einer linearen Trendentfernung unterzogen. Um die Aktivierung darzustellen, wurden statistisch-parametrische Karten mit Hilfe des generellen linearen Modells errechnet. Der BOLD-Signalverlauf jedes einzelnen Voxels wurde über eine idealisierte hämodynamische Antwortkurve als Referenzfunktion mit den Stimulationseignissen korreliert [Boynton, G. M. et al. 1996] und zum Vergleich mit der NIRS-[deoxy-Hb]-Antwort ereignisbezogen gemittelt.

4.4.3 Rekonstruktion der Optoden-Lokalisation

Um die Lokalisation der Optoden im Bilddatensatz zu ermöglichen, waren mehrere Vorbereitungsschritte erforderlich.

Da die Optoden selbst, um MR-kompatibel zu sein, nicht kontrastgebend waren, mussten virtuelle Stellvertreter der Optoden in Form zylindrischer Objekte von der Größe der Optoden auf einer *Open-GL-Oberfläche*² generiert werden. Die *Fiducials* wurden im individuellen Volumendatensatz lokalisiert. Anhand der *Fiducials* und der Imprimierung der Kopfhaut durch die Optodenthalterung konnte die exakte Position jedes Lichtleiters ermittelt werden (Abb. 6a). Mit den so ermittelten dreidimensionalen Koordinaten wurde eine Tangentialebene durch den Kontaktpunkt jeder einzelnen Optode auf der Kopfhaut in den 3-D-Datensatz eingefügt. In der *Open-GL-Oberfläche* wiederum konnte durch senkrecht aufsetzen der Optoden-Stellvertreter auf die Tangentialebene entsprechend der Koordinaten des Kontaktpunktes die exakte örtliche Lokalisation der Optoden auf der Kopfhaut des Probanden und ihre relative räumliche

² *Open-GL* steht für *Open-Graphic-Library* und bezeichnet eine Methode, die es ermöglicht, dreidimensionale Daten als Oberfläche in einem virtuellen Raum darzustellen. Zu einer Oberfläche, als *Open-GL*-Objekt dargestellt, lassen sich beliebig viele neue Oberflächen generieren und im Raum orientieren. Die Software *BrainVoyager* bietet die Möglichkeit, alle so zusammengestellten Oberflächen wiederum in den dreidimensionalen Volumen-Datensatz (aus der *Mprage* generiert) rückzuprojizieren, wo sie als Konturen sichtbar werden und für die weitere Bearbeitung zur Verfügung stehen.

Orientierung rekonstruiert werden.

Anschließend wurden die Optoden-Stellvertreter durch einen zweiten Zylinder nach 'intrakraniell' in den Volumen-Datensatz verlängert (Abb. 6b). Somit stellte sich in jeder beliebig durch den 3-D-Volumen-Datensatz angelegten Schicht eine exakte Projektion der Optoden dar.

Eine Bestimmung des durchleuchteten Messvolumens ist mit dem hier verwendeten Aufbau nicht möglich. Zur Festlegung des mutmaßlichen Messvolumens behelfen wir uns mit einem Ellipsoid, das zwischen den Projektionen der Optoden auf die Kortexoberfläche lag (Abb. 6c).

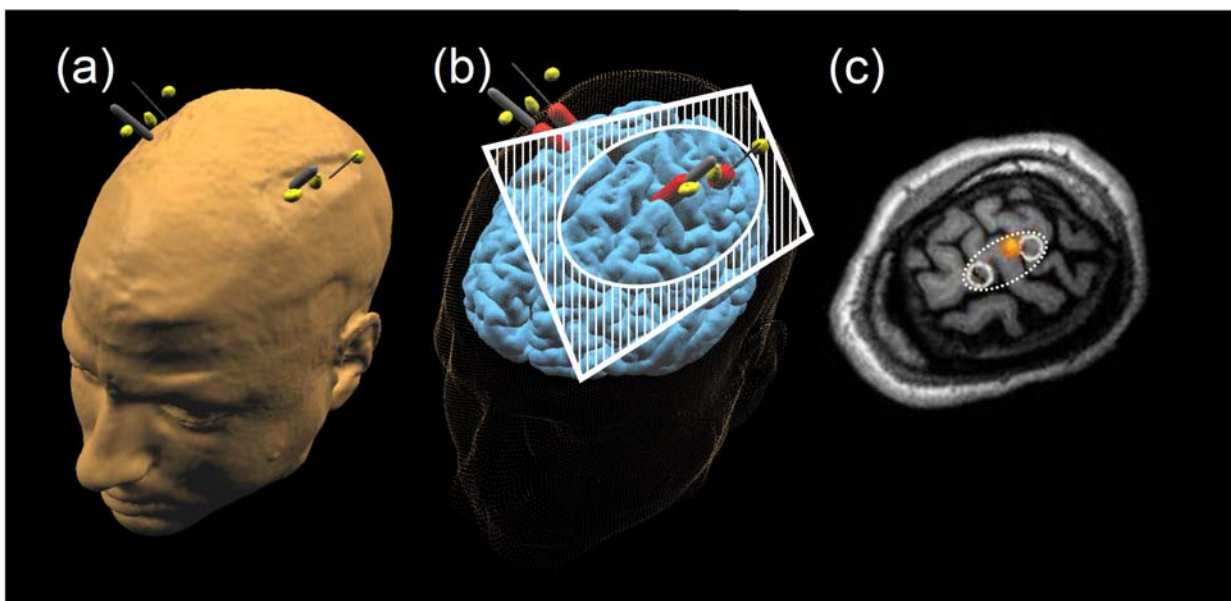


Abb. 6 soll die Schritte zur Rekonstruktion der Optodenlokalisierung veranschaulichen als *Open-GL*-Rekonstruktion von Kopfoberfläche, *Fiducials* (gelb) und virtuellen Optoden-Stellvertretern (grau, (a)); die Optoden wurden virtuell nach intrakraniell verlängert (rot, (b)) um die Achsen der Streukegel des NIR-Lichtes im Kortex in jeder beliebigen Schicht durch den Kortex (schraffierte Fläche) nachvollziehen zu können (c), wo sie sich als weiße Kreise demarkieren. Das dazwischen liegende Volumen wurde als putatives NIRS-Messvolumen definiert (gepunktetes Ellipsoid).

4.4.4 Korrelation des [deoxy-Hb] mit dem BOLD-Kontrast

Die Korrelation des [deoxy-Hb] der NIRS und des BOLD-Kontrasts verlief in mehreren Schritten. Zunächst wurde ein Lateralisierungsindex (LI) des [deoxy-Hb] erstellt. Hierzu wurde die maximale Antwort des [deoxy-Hb] ermittelt (3-5 Sekunden nach Stimulation)

und mit der *baseline* (1-2 Sekunden vor Stimulation) verglichen. Ein LI > 0 war definiert als Lateralisierung der Antwort nach kontralateral, ein LI < 0 zeigte an, dass die Signalantwort auf ipsilaterale Stimulation größer war.

Die Lokalisation der Optoden in Bezug auf die maximale Antwort des BOLD-Kontrasts ($BOLD_{max}$) wurde in 3 Kategorien eingeteilt: $BOLD_{max}$ befand sich direkt zwischen den NIRS-Optoden und damit im putativen Messvolumen (MV) der NIRS (loc1); $BOLD_{max}$ befand sich direkt angrenzend an das MV (loc2) bzw. außerhalb davon (loc3).

Parallel dazu wurden die ereignisbezogen gemittelten Antworten von [deoxy-Hb] und BOLD-Kontrast in den Voxeln des NIRS-MV ($BOLD_{MV}$) korreliert (Pearson's R, SPSS).

In einem letzten Schritt wurden in ausgewählten Probanden die funktionellen EPI-Sequenzen an Stelle der idealisierten hämodynamischen Antwortfunktion (s. Kap. 4.4.2) mit der [deoxy-Hb]-Antwort und der [oxy-Hb]-Antwort aus den beiden NIRS-Kanälen korreliert (MatLab). Die hieraus resultierenden Korrelationskarten wurden zunächst mit den anatomischen Dummy-Schichten und anschließend mit der entsprechenden anatomischen Schicht der MPrage fusioniert.

4.5 Studie 1: Etablierung des „Single-trial“-Paradigmas und Einfluss des systemischen Blutdruckes

In der ersten Studie wurde ein neues motorisches Stimulationsparadigma etabliert und zur Differenzierung von intra- und extrazerebralem Signal gleichzeitig systemische hämodynamische Änderungen registriert. Zehn gesunde junge Probanden (weiblich/männlich = 5/5, mittleres Alter $25,9 \pm 1,7$ Jahre) wurden untersucht. Jeder Proband wurde ausführlich über die Methode aufgeklärt, willigte schriftlich in die Untersuchung ein und erhielt eine Aufwandsentschädigung.

Die Versuchspersonen sollten auf einen optischen Stimulus hin mit einer kurzen, schnellenden Bewegung des rechten und linken Zeigefingers eine Taste drücken. Zur Differenzierung zwischen intra- und extrazerebralen Antworten diente die gleichzeitige Aufzeichnung des Blutdruckes als systemischer hämodynamischer Parameter.

4.6 Studie 2: Simultane NIRS-fMRT-Aufzeichnung

Im Mittelpunkt der zweiten Studie stand die Frage nach der Beeinflussbarkeit der NIRS-Parameter von der Lokalisation der Optodenpaare. Dazu wurden gesunde Probanden (N=10; weiblich/männlich = 5/5; $25,3 \pm 1,3$ Jahre alt) simultan im Magnet-Resonanz-Tomographen mit dem NIRS-Aufbau der ersten Studie untersucht. In einem Probanden wurden beide NIRS-Kanäle über der rechten Hemisphäre positioniert, um eine höhere räumliche Auflösung in der NIRS zu erreichen. Die Stimulation erfolgte über das gleiche motorische Paradigma, aus technischen Gründen hier auditiv getriggert. Die Koregistrierung ermöglicht eine überzeugende räumlich-topographische Zuordnung des [deoxy-Hb]-Abfalls zu Steigerungen des BOLD-Kontrastes und Korrelation beider Parameter im betreffenden Kortexareal. Nach ausführlicher Aufklärung über die verwendeten Methoden wurde die schriftliche Einwilligung eines jeden Probanden zu den Untersuchungen eingeholt.

5 Ergebnisse

5.1 Studie 1: motorische „Single-Trial“ Stimulation und kapillärer Blutdruck

Im Folgenden sind die gemittelten Signalverläufe über alle Probanden (n=10) für [oxy-Hb], [deoxy-Hb] und den kapillären Blutdruck (kBP) dargestellt. Insgesamt wurden 720 Stimulationszyklen aufgezeichnet. Die Ergebnisse beziehen sich jeweils auf die NIRS-Kanäle über der rechten und linken Hemisphäre und die relativ zu jedem Kanal ipsilateral und kontralateral erfolgte Stimulation. Die Inter-Stimulus-Intervalle betragen im Mittel 10 Sekunden (8-12 Sekunden). Tabelle 1 fasst die Antwortgrößen von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] in beiden Kanälen zusammen.

	Stimulus		p-Wert
	Ipsilateral	Kontralateral	
oxy-Hb [μM]	0,50 \pm 0,12	0,55 \pm 0,12	<i>n.s.</i>
deoxy-Hb [μM]	-0,04 \pm 0,01	-0,08 \pm 0,02	0,002

Tabelle 1 Konzentrationsänderung von oxygeniertem (oxy-Hb) und deoxygeniertem Hämoglobin (deoxy-Hb) in μM nach Stimulation durch eine einzelne, schnellende Bewegung des 2. Fingers. Die Antworten sind für beide Kanäle zusammengefasst (n=20). Je ein Optodenpaar (Emitter und Detektor) bildet einen Kanal, linkshemiphöriell oder rechtshemiphöriell über der Zentralregion (C3/C4 nach 10-20 System) lokalisiert. Zielstruktur war damit der primärmotorische Kortex. Die Seite der Stimulation ist bezogen auf den NIRS-Kanal ipsilateral respektive kontralateral. Die Daten sind als Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes dargestellt.

5.1.1 Das oxygenierte Hämoglobin

Nach motorischer Stimulation zeigen beide Kanäle einen Anstieg des [oxy-Hb] eine Sekunde nach der Stimulation. Die maximale Antwort wird zwischen 4 und 6 Sekunden nach Stimulation erreicht. Nach 10 Sekunden ist die Konzentration wieder auf die Ausgangswerte zurückgekehrt. Im Mittel nach 10 Sekunden erfolgte der nächste Stimulus mit erneutem Anstieg des [oxy-Hb] (s. Abb. 9). In Abb. 7 sind die Werte der Ruhephasen und Signalantwort dargestellt. Zwischen ipsilateraler und kontralateraler Stimulation konnte kein signifikanter Unterschied der Antwortgröße gemessen werden.

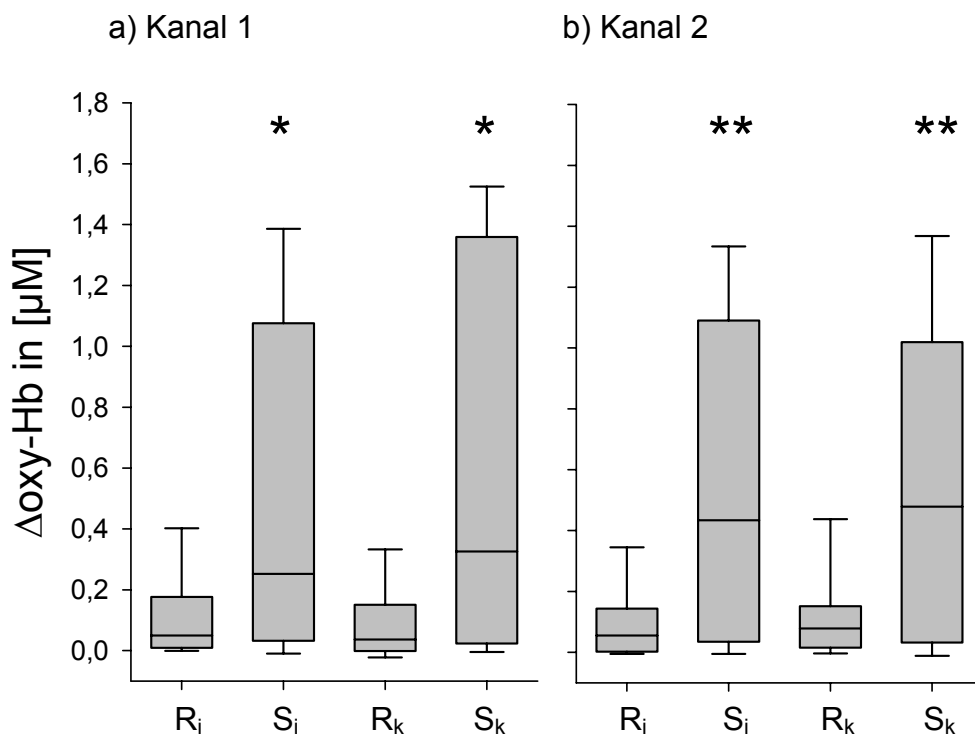


Abb. 7 Kortikale Konzentrationsänderung in μM des oxy-Hb nach Stimulation. Kanal 1 war linkshemisphäriell über dem primärmotorischen Kortex lokalisiert, Kanal 2 über der homologen Region rechtshemisphäriell. Dargestellt sind Ruhe- und Stimulationsphase jeweils ipsilateral (R_i und S_i) beziehungsweise kontralateral (R_k und S_k) zum entsprechenden Kanal mit signifikanter bis hochsignifikanter Zunahme von [oxy-Hb] nach Stimulation (* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$). Der Unterschied der Signalantworten zwischen ipsilateraler und kontralateraler Stimulation war nicht signifikant.

5.1.2 Das deoxygenierte Hämoglobin

Für das [deoxy-Hb] zeigt sich mit ähnlicher zeitlicher Latenz wie beim [oxy-Hb] nach Stimulation ein Abfall der Konzentration s. Abb. 9, Mitte). Eine maximale Antwort ist nach 5 bis 6 Sekunden erreicht, wonach die Konzentrationen wieder zum Ausgangsniveau zurückkehren. Abb. 8 gibt die Konzentrationsänderung nach Stimulation im Vergleich zur Ruhephase wieder. Nach kontralateraler Stimulation kommt es in Kanal 1 (linkshemisphäriell) zu einem signifikant größeren Abfall des [deoxy-Hb] als nach ipsilateraler mit einer Differenz von $0,044 \pm 0,02 \mu\text{M}$ (Faktor 2,14; $p=0,017$). In Kanal 2 (rechtshemisphäriell) war die Antwort auf kontralaterale um $0,040 \pm 0,017 \mu\text{M}$ größer (Faktor 1,96; $p=0,047$) als auf ipsilaterale Stimulation.

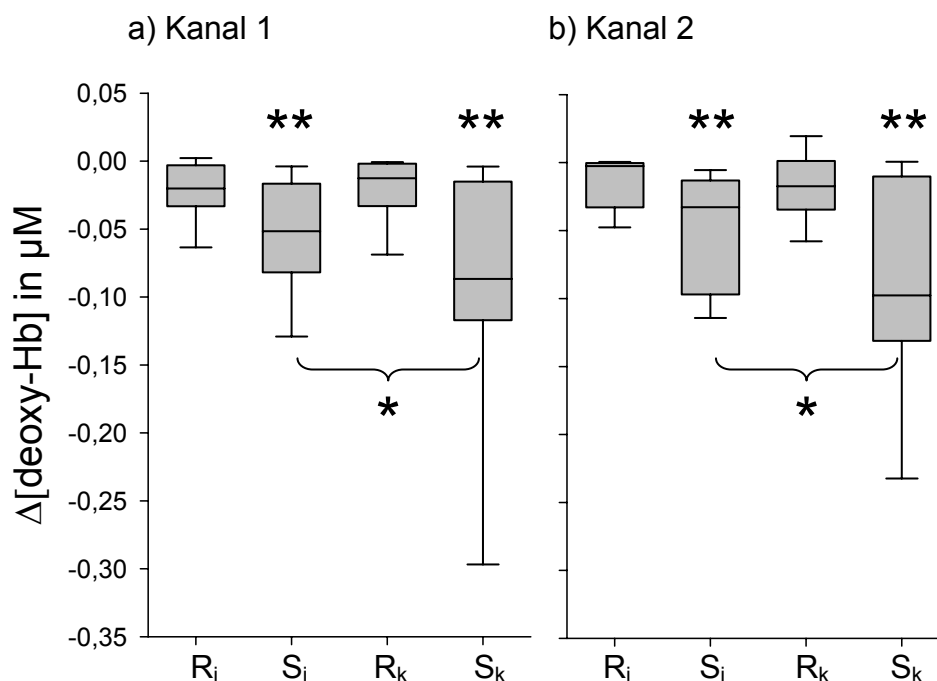


Abb. 8 Kortikale Konzentrationsänderung in μM des deoxy-Hb nach Stimulation (entsprechend Abb. 7). Über der linken Hemisphäre (Kanal 1) und rechten Hemisphäre (Kanal 2) kommt es zu einem hochsignifikanten Abfall der deoxy-Hb-Konzentration nach kontralateraler (S_k) und ipsilateraler Stimulation (S_i) im Vergleich zur Ruhephase (R_k respektive R_i , $**p<0,001$). Die Abnahme nach kontralateralem Stimulus ist in beiden Kanälen größer als nach ipsilateralem ($*p<0,05$), die Stimulationsantwort ist also statistisch signifikant lateralisiert.

5.1.3 Der kapilläre Blutdruck (kBP)

Soll der Blutdruck kontinuierlich aufgezeichnet werden, ist die Kalibrierung des Finapres-Systems unzureichend. Die Messung des kapillären Blutdruckes mit dem Finapres-Gerät ermöglicht daher keine Quantifizierung der Werte in mmHg, wir geben also die Änderungen des kBP in sogenannten „*arbitrary units*“ (a.u.) an. Dies ist allerdings bei dem Vergleich mit den NIRS Messungen ausreichend, da ein quantitativer Vergleich mit den gemessenen Konzentrationsmessungen am Kopfe nicht möglich ist. Die nicht lateralisierte oxy-Hb Antwort ist auch nicht einfach als bloße Abbildung des systemischen Blutdrucks zu werten. Hintergrund der RR-Messung war die Überprüfung der sonst oft angenommenen Voraussetzung für NIRS Messungen, dass die extrazerebrale Durchblutung konstant sei. Im Gegensatz dazu finden wir, dass der systemische kBP ebenfalls mit einem signifikanten Anstieg nach Stimulation reagierte. Dies war der Fall, wenn ipsilateral zur Fingermanschette stimuliert wurde ($0,018 \pm 0,006$ a.u., $p=0,017$), aber auch auf der Gegenseite ($0,030 \pm 0,005$ a.u., $p=0,005$). Einen Unterschied zwischen ipsi- und kontralateraler Stimulation sahen wir nicht, was der physiologisch plausiblen Hypothese einer systemischen hämodynamischen Antwort entspricht. Der zeitliche Verlauf zeigte die gleichen Latenzen wie das [oxy-Hb]: ein Anstieg folgt kurz auf den Stimulus, das Maximum ist nach etwa 5 Sekunden erreicht, gefolgt von einem Abfall auf das Ausgangsniveau nach etwa 10 Sekunden (s. Abb. 9, unten).

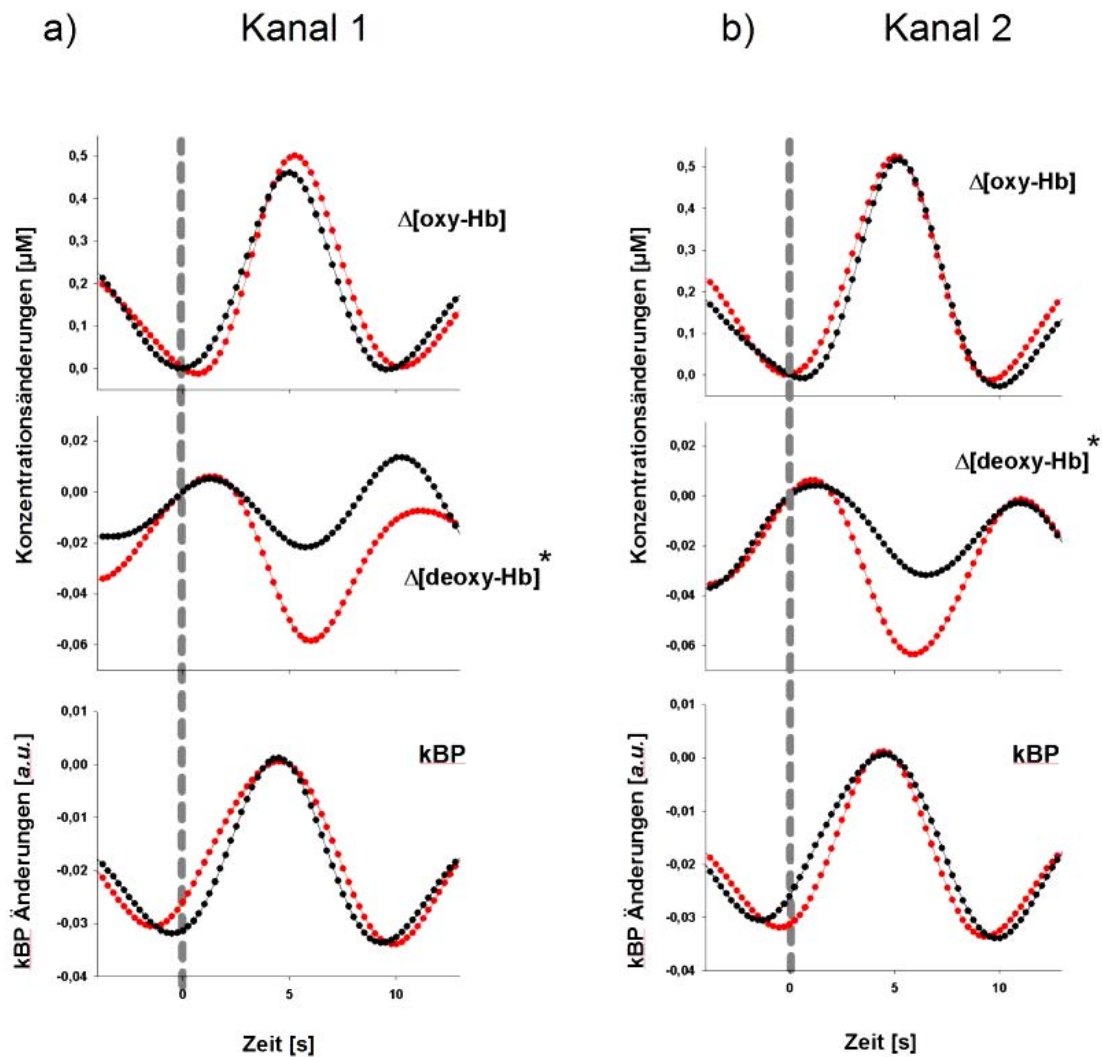


Abb. 9 Dargestellt sind die ereignisbezogenen Veränderungen aus der ersten Studie über alle 10 Probanden gemittelt für die NIRS-Kanäle 1 (a) und 2 (b). Die Verläufe sind bezüglich der Messoptode nach kontralateraler (rot) und ipsilateraler (schwarz) Stimulation abgetragen. Der Zeitpunkt der Stimulation ist durch die grau gestrichelte Linie zum Zeitpunkt „0“ markiert. [Oxy-Hb] zeigt keinen Unterschied zwischen ipsi- und kontralateraler Stimulation (oben). Der Abfall des [deoxy-Hb] nach kontralateraler Stimulation ist signifikant größer als nach ipsilateraler (*; $p < 0,05$). Der kapilläre Blutdruck (kBP, unten) in Relativseinheiten (*arbitrary units, a.u.*) steigt mit Stimulation bzw. kurz davor signifikant an mit einem Maximum 4 – 5 Sekunden darauf und zeigt damit einen sehr ähnlichen Verlauf wie das [oxy-Hb].

5.2 Studie 2: NIRS-fMRT-Simultanmessung

Analog zu Studie 1 erfolgen die Angaben der Konzentrationsänderungen von oxy- und deoxy-Hb in μM . Für die Betrachtung der Ergebnisse bezüglich des BOLD-Kontrastes werden die Hemisphären der 10 untersuchten Probanden als separate Fälle mit jeweils ipsi- und kontralateraler Stimulation behandelt ($n=20$).

Die Messdauer war durch die Speicherkapazität des MR-Tomographen auf 600 Aufnahmen pro Untersuchung limitiert. Die verwendete TR von 1090 ms ergab somit eine Dauer von etwa 11 Minuten pro Messung. So konnten insgesamt 420 Stimulationszyklen aufgezeichnet werden. Im Folgenden sind tabellarisch die individuellen Ergebnisse sowie graphisch die zusammengefassten Antworten und einige repräsentative Beispiele dargestellt.

5.2.1 Die Lokalisation der Optoden

In 9 von 20 Hemisphären entsprach das NIRS-MV (MessVolumen) der maximalen BOLD-Kontrast-Antwort (BOLD_{\max} , loc1), in 8 von 20 Hemisphäre befand sich das MV direkt angrenzend an BOLD_{\max} (loc2). In 3 Fällen war keine räumliche Übereinstimmung des NIRS-MV und BOLD_{\max} festzustellen (loc3).

Die Lokalisation der NIRS-Optoden bezogen auf die beste Signalantwort in der fMRT im Detail zeigt Tabelle 4.

5.2.2 Das oxygenierte und deoxygenierte Hämoglobin der NIRS-Antworten

Über alle Probanden und beide Hemisphären gemittelt waren die Ergebnisse der NIRS gemäß denen der Studie 1: die Antwort des [oxy-Hb] zeigte keine Seitendifferenz, während sich im [deoxy-Hb] ein Trend zur Lateralisierung zeigte ($p=0,086$, Tabelle 2).

	Stimulus		<i>p</i> -Wert
	ipsilateral	kontralateral	
oxy-Hb [μM]	0,19 ± 0,07	0,24 ± 0,06	0,411
deoxy-Hb [μM]	-0,06 ± 0,01	-0,09 ± 0,01	0,086

Tabelle 2 NIRS-Antworten aus der Simultanmessung im Magneten nach motorischer Stimulation. Es sind die Konzentrationsänderungen von oxy- und deoxygeniertem Hämoglobin beider Kanäle und somit beider Hemisphären zusammengefasst (n=20). Die Seite der Stimulation bezieht sich auf die Hemisphäre, über der die Optodenpaare fixiert waren (Mittelwerte ± Standardfehler des Mittelwertes).

In 15 von 20 Fällen lateralisierte die [deoxy-Hb]-Antwort nach kontralateral: In 8 dieser Fälle waren die Optoden optimal lokalisiert (loc1), was in 63% (5/8) zu einer signifikanten Lateralisierung führte ($p < 0,05$); in fünf der Fälle befanden sich die Optoden direkt benachbart zur maximalen Signalantwort in der fMRT (loc2), hiervon lateralisierte das [deoxy-Hb] in einem Fall (20%) signifikant. In zwei von 15 Fällen mit Lateralisierung nach kontralateral fehlte eine Übereinstimmung des NIRS-MV und der BOLD-Kontrast-Antwort wobei es zu keiner signifikanten Lateralisierung des [deoxy-Hb] kam (Tabelle 4).

Zur gleichen Seite lateralisierte das [deoxy-Hb] in fünf von 20 Fällen, in keinem Falle signifikant (in einem Fall loc1, in drei Fällen loc2, in einem Fall loc3).

Mit zunehmender Genauigkeit der Optodenlokalisierung über $BOLD_{max}$ war die Antwort des [deoxy-Hb] sowohl ausgeprägter als auch stärker lateralisiert. Die Antwort des [oxy-Hb] hingegen blieb hinsichtlich der Lateralisierung unbeeinflusst von der Optodenlokalisierung. Stattdessen nahm die Antwortgröße mit abnehmender Genauigkeit der Lokalisation noch zu (Tabelle 3).

Optoden	Stimulus		
	ipsilateral	kontralateral	p-Wert
loc1 (n=9)			
oxy-Hb [μM]	0,13 \pm 0,09	0,20 \pm 0,07	<i>n.s.</i>
deoxy-Hb [μM]	-0,06 \pm 0,02	-0,12 \pm 0,03	(0,051)
loc2 (n=8)			
oxy-Hb [μM]	0,15 \pm 0,08	0,21 \pm 0,09	<i>n.s.</i>
deoxy-Hb [μM]	-0,08 \pm 0,02	-0,08 \pm 0,01	<i>n.s.</i>
loc3 (n=3)			
oxy-Hb [μM]	0,48 \pm 0,23	0,44 \pm 0,22	<i>n.s.</i>
deoxy-Hb [μM]	-0,04 \pm 0,02	-0,04 \pm 0,03	<i>n.s.</i>

Tabelle 3 NIRS-Antworten entsprechend der Lokalisation der NIRS-Optoden: Die maximale Signalantwort des BOLD-Kontrastes (BOLD_{max}) lag innerhalb des vermutlichen Messvolumens (loc1), direkt benachbart hierzu (loc2) bzw. war nicht vereinbar mit dem vermuteten Messvolumens (loc3; Mittelwerte \pm Standardfehler des Mittelwertes). Als signifikant galten Seitendifferenzen für $p < 0,05$.

5.2.3 Der BOLD-Kontrast in der fMRT

Die Mittelung von $BOLD_{max}$ über alle Probanden und Hemisphären ergab eine Signaländerung in der Größenordnung von 1% ($p < 0,0005$), die ihr Maximum etwa 5 Sekunden nach Stimulation erreichte (Abb. 10).

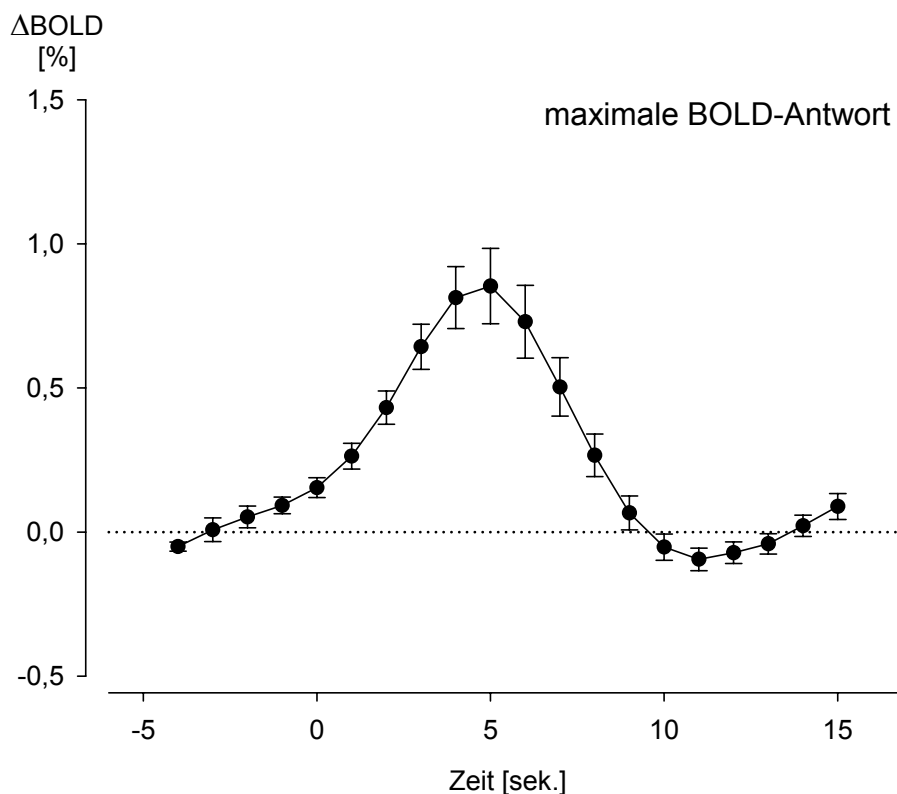


Abb. 10 BOLD-Signalverlauf im Bereich von $BOLD_{max}$ nach kontralateraler Stimulation, gemittelt über alle Probanden und beide Hemisphären ($n=20$). Die Stimulation erfolgte zum Zeitpunkt „0“, rechte und linke Seite wurden abwechselnd stimuliert. Das Interstimulus-Intervall betrug 10 Sekunden; die ereignisbezogene Mittelung zeigt somit bei 10 Sekunden nach Stimulation bereits die Signalreaktion auf die ipsilaterale Fingerbewegung.

Zusätzlich zur Aktivierung des primären sensomotorischen Kortex zeigte sich eine Aktivierung im Bereich der Mittellinie korrespondierend zum supplementärmotorischen Kortex (SMA) in sieben Probanden. Vier der Probanden zeigten diese zusätzliche Aktivierung nach Stimulation beider Seiten, während bei drei Probanden sie nur bei Stimulation der rechten Seite zu sehen war.

Der BOLD-Signalverlauf im putativen NIRS-Messvolumen ($BOLD_{MV}$) veränderte sich,

aufgeteilt nach Lokalisation der Optoden (loc1, loc2 und loc3), sowohl bezüglich der maximalen Antwortgröße, der interindividuellen Streuung als auch der Latenz bis zum Maximum des Signals (s. Abb. 11): loc1, $0,68 \pm 0,17$ % ($p=0,011$) fünf Sekunden nach Stimulation; loc2, $1,45 \pm 0,97$ % ($p=0,018$) vier Sekunden nach Stimulation; loc3, $0,98 \pm 0,19$ % ($p=0,109$) zwei Sekunden nach Stimulation.

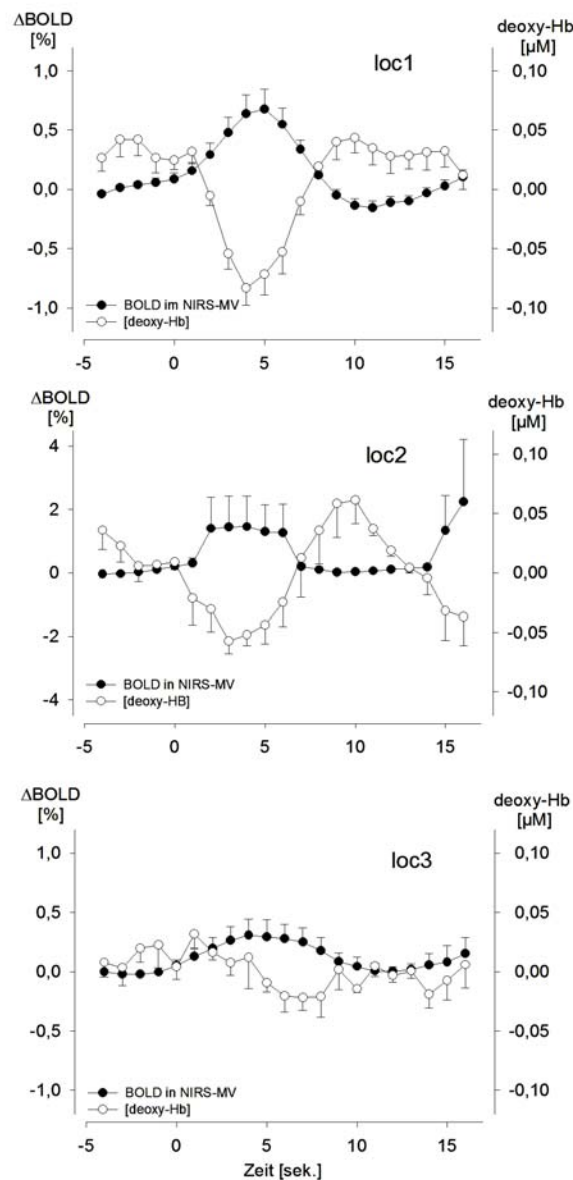


Abb. 11 Die Abbildung zeigt die Signalverläufe des BOLD-Kontrastes (●) und des [deoxy-Hb] (○) im putativen Messvolumen (MV) der NIRS bei kontralateraler Stimulation (0 Sekunden). Die Antworten sind über alle Hemisphären gemittelt und nach Lokalisation der Optoden aufgeteilt: BOLD_{max} stimmt mit NIRS-MV überein (loc1, n=9), liegt direkt angrenzend an NIRS-MV (loc2, n=8) oder sicher außerhalb (loc3, n=3). Entsprechend Abb. 10 betrug das Interstimulus-Intervall 10 Sekunden, weshalb zu diesem Zeitpunkt bereits die Antwort auf die ipsilateral gelegene Stimulation zu sehen ist.

5.2.4 Korrelation von [deoxy-Hb] und BOLD-Kontrast

Für die Korrelation der ereignisbezogenen BOLD-Antworten mit dem [deoxy-Hb]-Signal der NIRS wurde der Kontrastverlauf der Voxel zwischen den Optoden im putativen NIRS-Messvolumen ermittelt ($BOLD_{MV}$) und mit den [deoxy-Hb]-Werten nach Lokalisation der Optoden getrennt korreliert (siehe Tabelle 4).

$BOLD_{MV}$ und [deoxy-Hb] korrelierten in allen Probanden wie erwartet negativ.

Nr.	Lateralisierung	Lokalisation	Korrelation BOLD und [deoxy-Hb] (Pearson's R)		
			[deoxy-Hb] der Optoden		
			NIRS-MV	BOLD _{max}	
1	R	kl ($p=0,003$)	loc1	-0,891 ($p<0,0005$)	-0,871 ($p<0,0005$)
	L	kl ($p=0,01$)	loc1	-0,349 (<i>n.s.</i>)	-0,809 ($p<0,0005$)
2	R	il (<i>n.s.</i>)	loc1	-0,517 ($p=0,006$)	-0,831 ($p<0,0005$)
	L	kl (<i>n.s.</i>)	loc3	-0,715 ($p<0,0005$)	-0,091 (<i>n.s.</i>)
3	R	kl (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,251 (<i>n.s.</i>)	-0,264 (<i>n.s.</i>)
	L	il (<i>n.s.</i>)	loc3	-0,308 (<i>n.s.</i>)	-0,218 (<i>n.s.</i>)
4	R (II)	il (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,623 ($p=0,001$)	-0,785 ($p<0,0005$)
	R (I)	il (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,870 ($p<0,0005$)	-0,739 ($p<0,0005$)
5	R	kl ($p=0,016$)	loc2	-0,646 ($p<0,0005$)	-0,957 ($p<0,0005$)
	L	kl ($p=0,020$)	loc1	-0,773 ($p<0,0005$)	= NIRS-MV
6	R	il (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,778 ($p<0,0005$)	-0,694 ($p<0,0005$)
	L	kl (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,496 ($p=0,008$)	-0,660 ($p<0,0005$)
7	R	kl (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,753 ($p<0,0005$)	-0,669 ($p<0,0005$)
	L	kl (<i>n.s.</i>)	loc2	-0,812 ($p<0,0005$)	-0,783 ($p<0,0005$)
8	R	kl (<i>n.s.</i>)	loc1	-0,211 (<i>n.s.</i>)	=NIRS-MV
	L	kl (<i>n.s.</i>)	loc3	-0,147 (<i>n.s.</i>)	-0,324 (<i>n.s.</i>)
9	R	kl ($p=0,007$)	loc1	-0,881 ($p<0,0005$)	=NIRS-MV
	L	kl (<i>n.s.</i>)	loc1	-0,865 ($p<0,0005$)	=NIRS-MV
10	R	kl ($p=0,048$)	loc1	-0,938 ($p<0,0005$)	-0,966 ($p<0,0005$)
	L	kl (<i>n.s.</i>)	loc1	-0,859 ($p<0,0005$)	-0,808 ($p<0,0005$)

Tabelle 4 Übersicht über die Korrelation (Pearson's R) des [deoxy-Hb] und des BOLD-Kontrastes über rechter (R) und linker Hemisphäre (L) in allen Probanden. Bei einem Probanden waren beide Optodenpaare über der rechten Hemisphäre angebracht (Proband 4). Die Antwort des [deoxy-Hb] lateralisierte nach kontralateral (kl) oder ipsilateral (il). Die Optoden-Positionierung ist eingeteilt nach der Lokalisation von BOLD_{max}, im NIRS-Messvolumen (NIRS-MV) (loc1), angrenzend hierzu (loc2) und außerhalb liegend (loc3). Korreliert wurden die ereignisbezogen gemittelten Verläufe von [deoxy-Hb] mit dem BOLD-Kontrast im NIRS-MV sowie [deoxy-Hb] mit BOLD_{max}. Lateralisierung und Korrelation wurden als signifikant gewertet für $p<0,05$.

5.2.4.1 NIRS-Messvolumen = $BOLD_{max}$ (loc1, n=9)

Hochsignifikante Korrelationen von BOLD-Kontrast und [deoxy-Hb] ($p < 0,0005$) ergaben sich in sechs Fällen, vier davon mit signifikanter Lateralisierung ($p < 0,048$), zwei ohne signifikante Lateralisierung des [deoxy-Hb]. In einem Fall kam es trotz signifikanter Lateralisierung des [deoxy-Hb] zu keiner signifikanten Korrelation mit $BOLD_{MV}$. Ein weiterer Fall mit guter Optodenlokalisierung zeigte weder eine signifikante Lateralisierung des [deoxy-Hb] noch eine signifikante Korrelation mit $BOLD_{MV}$. In einem Fall ergab der Lateralisierungsindex eine (nicht signifikant) größere [deoxy-Hb]-Antwort zur gleichen Seite bei hochsignifikanter Korrelation mit $BOLD_{MV}$ ($p = 0,006$). Abb. 12 zeigt beispielhaft die Ergebnisse eines Falles der Kategorie loc1.

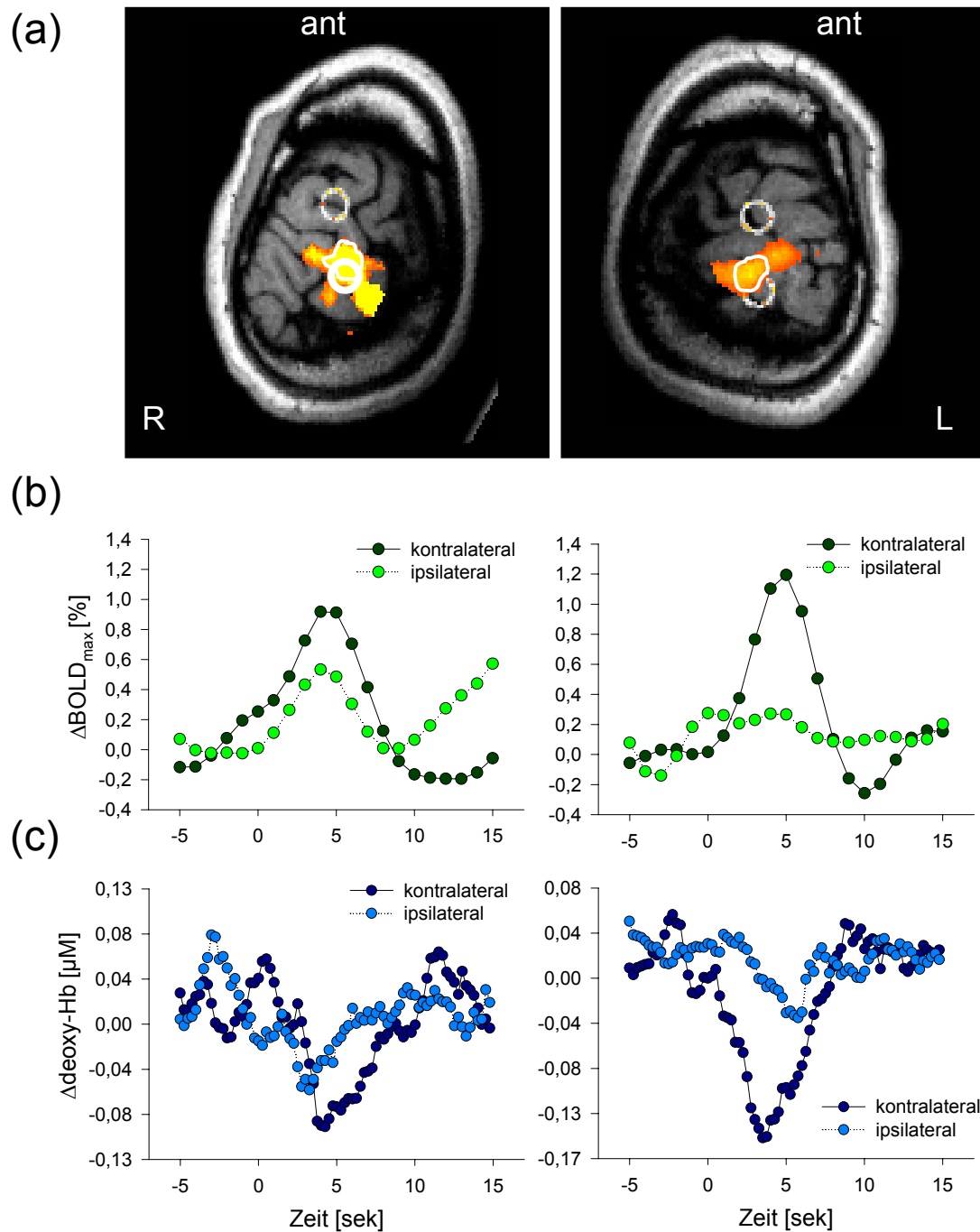


Abb. 12 Beispiel für optimale Lokalisation der Optoden (loc1) über rechter (R) und linker (L) Hemisphäre von Proband 9. (a) zeigt die tangentialen Schichten durch die Area M1 (ant, anterior). Die in die Schicht projizierten Optoden sind durch Kreise markiert, das NIRS-MV stellt das dazwischen gelegene Ellipsoid dar. (b) die ereignisbezogen gemittelten Kurven von BOLD_{max} stimmen weitestgehend mit BOLD_{MV} überein, weshalb auf die explizite Darstellung von BOLD_{MV} in diesem Fall verzichtet wurde. (c) Zum Vergleich die event-related gemittelte [deoxy-Hb]-Antwort. Zum Zeitpunkt „0“ erfolgte die Stimulation.

5.2.4.2 NIRS-Messvolumen grenzt an $BOLD_{max}$ (loc2, $n=8$)

In sieben Fällen kam es zu einer hochsignifikanten Korrelation von [deoxy-Hb] und $BOLD_{MV}$ ($p \leq 0,001$) ohne signifikante Lateralisierung des [deoxy-Hb]. In einem Fall korrelierten $BOLD_{MV}$ und [deoxy-Hb] nicht signifikant ohne Lateralisierung des [deoxy-Hb] (Tabelle 4). Die exemplarischen Signalverläufe des [deoxy-Hb] und $BOLD$ -Kontrastes für loc2 zeigt Abb. 13.

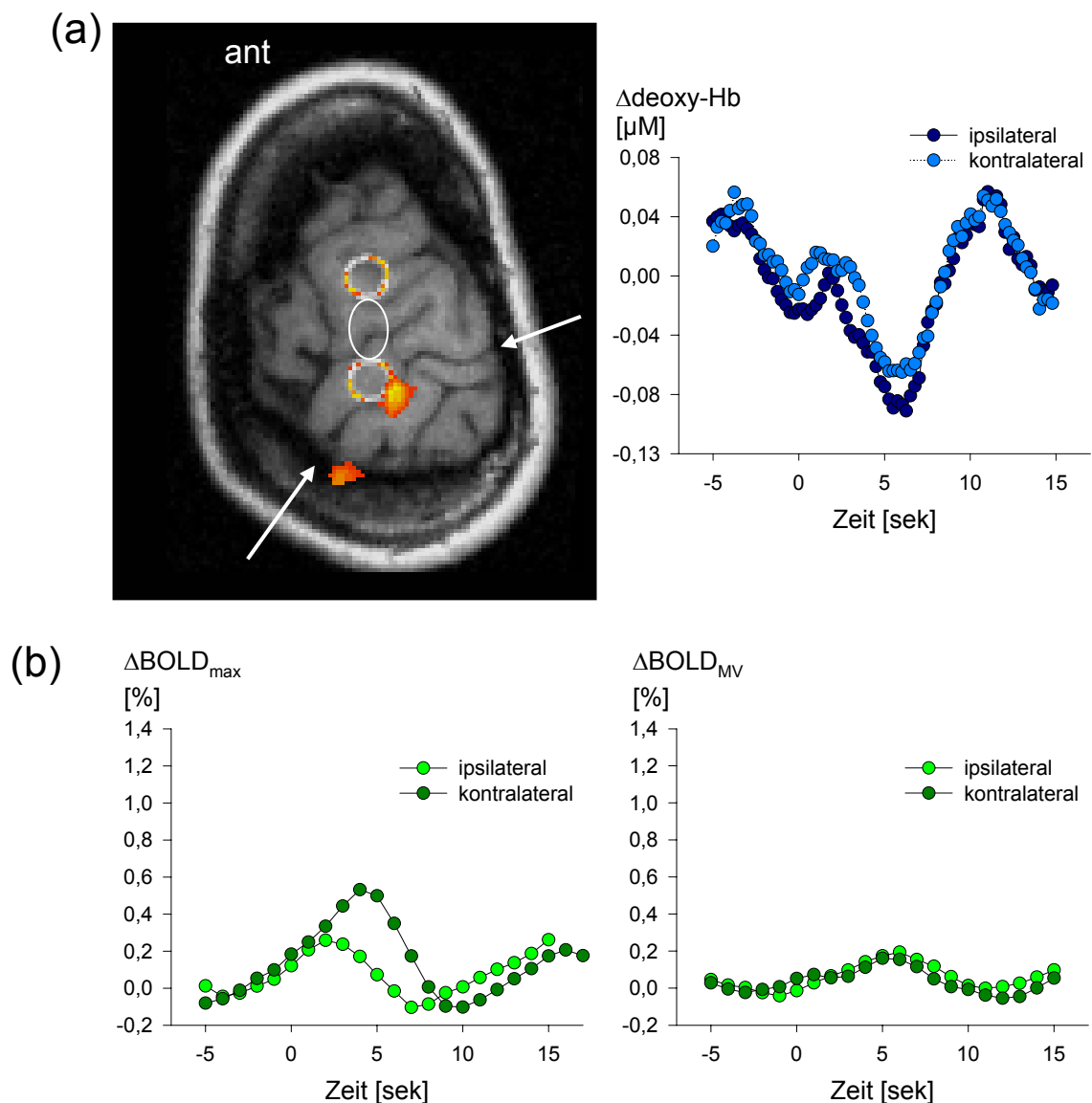


Abb. 13 stellt ein Beispiel für loc2-positionierte Optoden dar. (a) Gezeigt ist die tangential durch M1 gelegte Schicht mit entsprechender Darstellung der Optoden und des NIRS-MV. Der Sulcus centralis ist durch Pfeile angedeutet, „ant“ weist nach anterior. Rechts ist die ereignisbezogen gemittelte Antwort des [deoxy-Hb] zu sehen. (b) Im Vergleich hierzu die Verläufe von $BOLD_{max}$ und $BOLD_{MV}$.

5.2.4.3 NIRS-Messvolumen \neq $BOLD_{max}$ ($loc3$, $n=3$)

Einer der Fälle zeigte eine gute Korrelation ($R=-0,517$, $p=0,006$) ohne Lateralisierung, während die beiden übrigen Fälle weder im [deoxy-Hb] lateralisierten noch signifikant korrelierten. Die deutlich kleinere Amplitude der [deoxy-Hb] als auch des BOLD-Kontrastes zeigt Abb. 14.

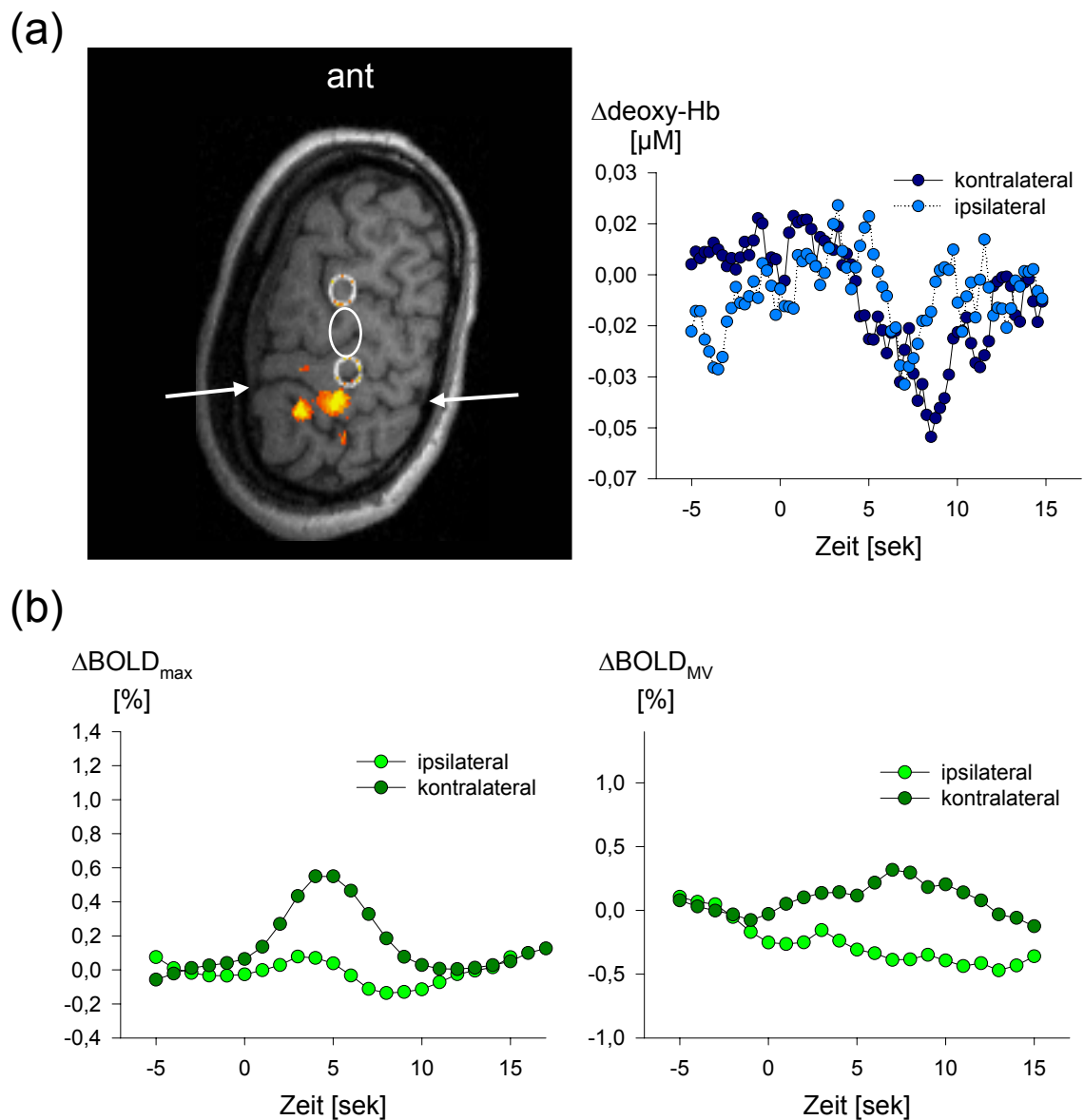


Abb. 14 repräsentiert exemplarisch die $loc3$ -Positionierung der Optoden. Die Bezeichnungen entsprechen der in Abb. 13.

5.2.4.4 NIRS-[deoxy-Hb] und -[oxy-Hb] als hämodynamische Antwortfunktion

Die schichtweise Korrelation des BOLD-Signals mit dem NIRS-[deoxy-Hb]-Signal als physiologische hämodynamische Antwortfunktion wurde exemplarisch in Proband 3 durchgeführt. Insbesondere die oberflächennahen kortikalen Voxel im Bereich zwischen den Optoden zeigten eine lateralisierte Korrelation zum [deoxy-Hb] ($r_{\max} = -0,58$) sowohl des rechten als auch des linken NIRS-Kanals (s. Abb. 15).

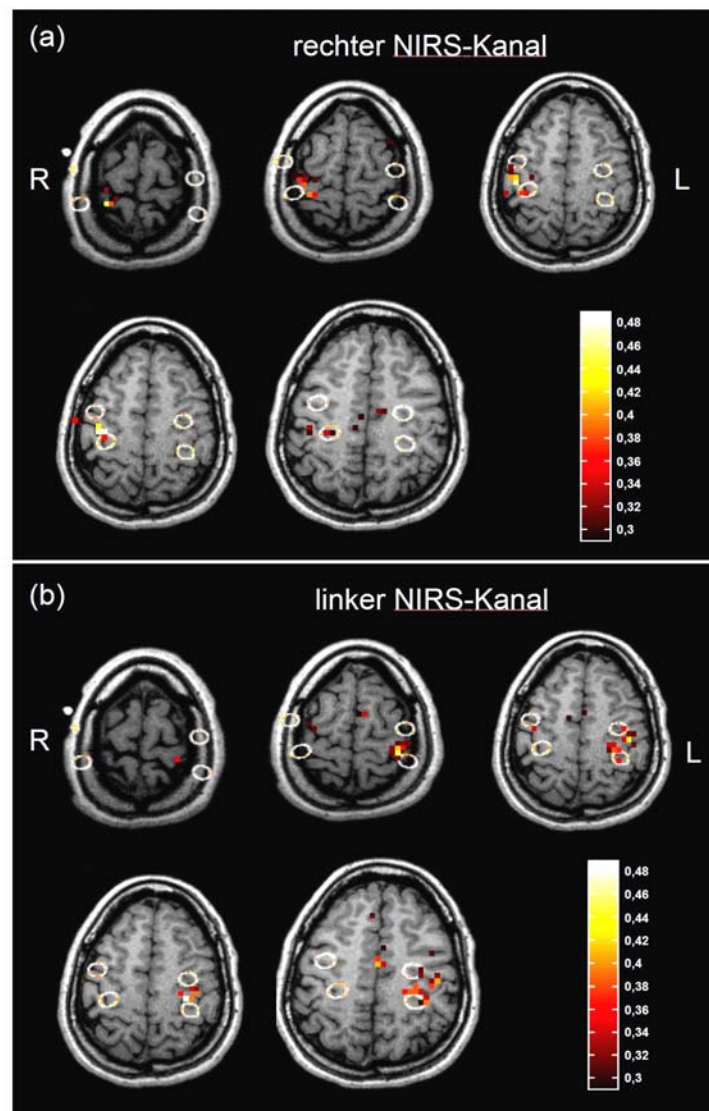


Abb. 15 zeigt die Korrelation des BOLD-Kontrastes aller funktionellen Schichten mit dem Signalverlauf des [deoxy-Hb] aus rechtem (a) und linkem (b) NIRS-Kanal als Referenzfunktion. Die Voxel sind entsprechend des r -Wertes farblich markiert und über die anatomischen Referenzschichten gelegt. Die Projektion der Optoden in die jeweilige Schicht ist als weißer Kreis dargestellt. Die Orientierung der Schichten ist konventionell (R, rechts; L, links).

Die Korrelation des BOLD-Kontrastes mit dem [oxy-Hb] ergab in den gleichen Schichten eine deutlich schwächere Lateralisierung im sensomotorischen Kortex. Außerdem korrelierten Areale occipital und frontal im Bereich der Mittellinie (s. Abb. 16).

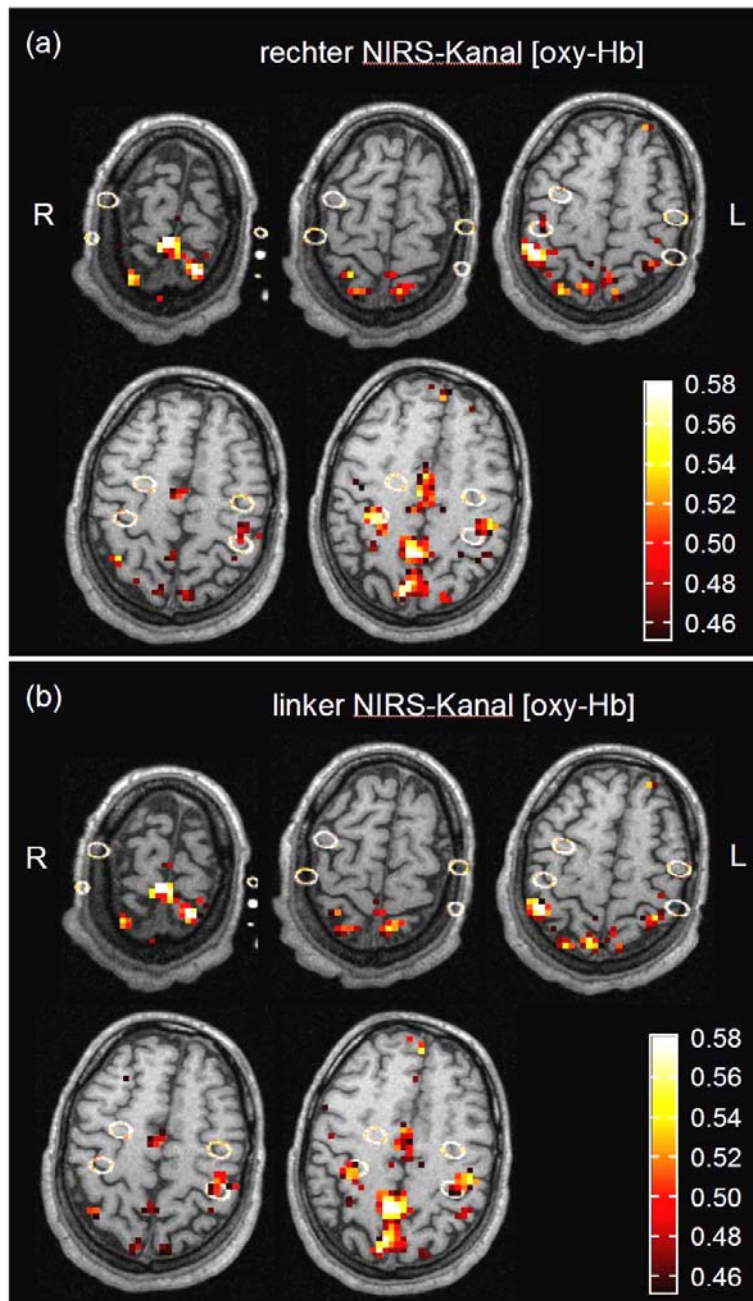


Abb. 16 Entsprechende Darstellung der Korrelation des [oxy-Hb] aus rechtem (a) und linkem (c) NIRS-Kanal mit dem BOLD-Kontrast.

6 Diskussion

Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass 1) die einzelne schnellende Fingerbewegung einen hinreichenden Stimulus darstellt, um eine mit dem nicht-invasiven NIRS-Ansatz detektierbare kortikale Oxygenierungsänderung hervorzurufen; 2) dieses Paradigma geeignet ist, um die Qualität der Lokalisierung der NIRS-Optoden widerzuspiegeln; 3) in der Simultandarstellung der neurovaskulären Antwort das [deoxy-Hb] der NIRS am besten mit dem BOLD-Kontrast der fMRT korreliert.

6.1 Qualitative Eigenschaften der hämodynamischen Antwortfunktionen

Die NIRS ist eine geeignete Technik, um eine neurovaskuläre Reaktion auch auf extrem kurze motorische Stimulation, die einzelne schnellende Bewegung des Zeigefingers, zu detektieren. Die Einzelbewegung („*single-trial*“) ist bislang nur selten eingesetzt worden [Horowitz, S. G. and Gore, J. C. 2004];[Jaszewski, G. et al. 2003];[Huppert, T. J. et al. 2006].

6.1.1 Latenz und Zeitverlauf der NIRS-Antwort

Entsprechend dem bisher verwendeten Stimulationsparadigma im '*block-design*' mit 30 Sekunden dauernder Stimulation [Obrig, H. et al. 1996b], lateralisiert das [deoxy-Hb] nach kontralateral. Die zeitliche Latenz ist der bei der *block-design*-Stimulation vergleichbar, der Abfall beginnt 1 bis 2 Sekunden nach Stimulation. Im Gegensatz zu der repetitiven Stimulation kommt es in der vorliegenden Arbeit nicht zu einer Plateaubildung des [deoxy-Hb]-Abfalls, vielmehr kehrt die Konzentration nach Erreichen des Minimums direkt wieder zum Ausgangswert zurück. Diese Reaktion findet sich konsistent in beiden Studien sowohl im [deoxy-Hb] als auch im [oxy-Hb].

Der Kurvenverlauf des [oxy-Hb] reagiert mit einem vergleichbaren Anstieg. Auffallend ist die bilateral gleich große Antwort des [oxy-Hb]. Die zeitliche Latenz ist im Gegensatz zum [deoxy-Hb] etwas kürzer, der Anstieg beginnt etwa 0 bis 1 Sekunde nach der Stimulation.

In einer kürzlich veröffentlichten Studie wurde ein ähnlich kurzer motorischer Stimulus verwendet [Jaszewski, G. et al. 2003]. Die Autoren ließen 13 Probanden auf einen

optischen Stimulus hin die rechte Hand 2 Sekunden lang mit einer Frequenz von etwa 3 Hz öffnen und schließen. Das Verhalten von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] war den hier gezeigten Ergebnissen sehr ähnlich in Latenz und Antwortgröße, unterschieden sich jedoch im weiteren Verlauf: Nach Rückkehr der Konzentrationsänderung zum Ausgangswert etwa 10 bis 11 Sekunden nach Stimulation kam es im [oxy-Hb] zu einem Absinken des [oxy-Hb] unter das Ausgangsniveau (*undershoot*) und einem Anstieg des [deoxy-Hb] über den Ausgangswert (*overshoot*). Diese „Überreaktion“ der NIRS-Parameter ist bereits seit längerem bekannt [Obrig, H. et al. 2000]. In der vorliegenden Arbeit findet sich im [deoxy-Hb] der beschriebene *overshoot* am deutlichsten in Studie 2 bei gut lokalisierten Optoden. Die relativ kurzen Intervalle zwischen den Stimulationen lassen jedoch die nächste Stimulationsphase in die Phase der überschießenden Reaktion fallen, überlagern und nivellieren diese.

Die Amplituden des [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] im hier verwendeten *singel-trial*-Versuchsaufbau bewegen sich in vergleichbaren Größenordnungen wie im *block-design* und sind für das [oxy-Hb] etwa um den Faktor 10 größer als für das [deoxy-Hb] [Obrig, H. et al. 1996c; Wenzel, R. et al. 1996].

6.1.2 Latenz und Zeitverlauf des systemischen Blutdruckes

Der periphere kapilläre Blutdruck als systemischer hämodynamischer Parameter zeigt in Studie 1 ebenfalls einen stimulationsabhängigen Anstieg, der erwartungsgemäß nicht lateralisiert. Entgegen der NIRS-Parameter eilt der RR-Anstieg dem Stimulus um 1 bis 2 Sekunden voraus. Die RR-Messung fand an der Fingerbeere des V. Fingers der linken Hand statt, ein Artefakt ist also theoretisch denkbar. Allerdings fiel die RR-Änderung auf ipsi- und kontralaterale Bewegung gleich groß aus, weshalb ein Artefakt durch Bewegung der Hand beim Ausführen der Aufgabe ausgeschlossen werden kann. Franceschini und Kollegen beschrieben kürzlich in einem motorischen *block-design*-Paradigma eine Steigerung der Herzfrequenz während Stimulation [Franceschini, M. A. et al. 2003]. Bei Stimulierung beider Hände beobachteten sie auch eine Antwort nach ipsilateraler Stimulation. Eine Analyse der Herzfrequenz wurde in dieser Arbeit nicht vorgenommen, es ist jedoch davon auszugehen, dass die systemisch-hämodynamische Mitreaktion auch durch eine sympathikotone Reaktion auf die durchzuführende Stimulationsaufgabe verursacht wird. Dies schlägt sich sowohl in der Reaktion des

Gefäßtonus, der Herzfrequenz und der Inotropie nieder.

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass eine systemische-hämodynamische Mitreaktion auch bereits bei kurzen motorischen Stimulationen registrierbar ist. Inwieweit diese Einfluss auf die zerebralen hämodynamischen Antworten haben können, wird im Folgenden diskutiert.

6.1.3 Systemischer Blutdruck und [oxy-Hb]

Entsprechend des nicht-invasiven Versuchsaufbaus tragen alle blutführenden Schichten (Haut, Periost, Spongiosa, Hirnhäute) mit zum NIRS-Signal bei [Firbank, M. et al. 1998]. Eine rein intrazerebrale hämodynamische Antwort ließe ein streng lateralisiertes Signal erwarten. Da eine systemische Antwort der Hämodynamik nicht auf eine Körperseite beschränkt auftritt und unter der Annahme, dass sie in den extrakraniellen Blutgefäßen wie an der Fingerbeere zur Geltung kommt, muss sie bei ipsilateraler und bei kontralateraler Stimulation zum NIRS-Signal beitragen.

In einer Studie an 10 freiwilligen jungen Probanden untersuchten Germon und Mitarbeiter Änderungen der NIRS-Antworten von [oxy-Hb] und [deoxy-Hb] während einer reaktiven Hyperämie der Galea [Germon, T. J. et al. 1998]. Hierzu induzierten sie durch eine supraorbital um den Schädel gelegte pneumatische Manschette eine rein extrakranielle Blutsperre kaudal der Optoden. Nach Lösen der Stauung erreichten sie so eine reaktive Hyperämie der Kopfhaut. Diese systemische Hyperämie verursachte einen signifikanten Anstieg des [oxy-Hb] bei einem Optodenabstand von 2,7cm. Hingegen zeigte das [deoxy-Hb] tendenziell ebenfalls einen leichten Anstieg. Der stärkere Einfluss einer systemischen Mitreaktion, i.e. der systemischen Blutdruckantwort nach Stimulation, auf das [oxy-Hb] schlägt sich in der vorliegenden Arbeit insofern nieder, als hier keine signifikante Lateralisierung des [oxy-Hb] detektiert werden konnte. Ein weiterer Hinweis auf die höhere Sensitivität des [oxy-Hb] für systemische Änderungen ist die kürzere Latenz der Antwort, die zwischen der des [deoxy-Hb] und des RR liegt.

6.1.4 Systemischer Blutdruck und [deoxy-Hb]

Der Anstieg des [deoxy-Hb] durch die von Germon induzierte reaktive Hyperämie lässt sich durch die Unterbindung der Sauerstoffversorgung und damit der gesteigerten Ausschöpfung der O₂-Kapazität des Hämoglobins interpretieren [Germon, T. J. et al. 1998]. In der vorliegenden Untersuchung findet sich dagegen ein Absinken des [deoxy-Hb] auch nach ipsilateraler Stimulation, kleiner als bei kontralateraler Fingerbewegung. Da in diesem Fall nicht von einer gesteigerten peripheren O₂-Stoffwechselrate ausgegangen werden kann, beruht der ipsilaterale [deoxy-Hb]-Abfall wahrscheinlich auf einem Auswascheffekt durch eine mit der peripheren Blutdrucksteigerung einhergehende Blutflusssteigerung.

Diese systemische Beimischung zu der 10-fach kleineren Antwort des [deoxy-Hb] ist dennoch nicht so ausgeprägt, dass der intrazerebrale Anteil hierdurch nivelliert wird. Die Lateralisierung zur Gegenseite der Stimulation belegt den zerebralen Ursprung des [deoxy-Hb]. Allerdings muss an dieser Stelle bereits darauf hingewiesen werden, dass sich auch intrakraniell eine ipsilaterale Antwort des [deoxy-Hb] findet. Dies wird in Kapitel 6.2.2 näher beleuchtet.

6.1.5 Partieller Volumeneffekt und *Cross-Talk*

Die NIRS als nicht-invasive Technik bietet die Möglichkeit, oxy-Hb und deoxy-Hb spektroskopisch zu determinieren und ihre Konzentrationsänderungen zu berechnen. Insbesondere bei der hier verwendeten Zwei-Punkt-Messung mit kontinuierlichem Spektrum müssen jedoch zwei Hauptfehlerquellen bedacht werden: der partielle Volumenfehler und ein *Cross-talk*-Fehler. Der partielle Volumenfehler entsteht durch ungenau lokalisierte Optoden über dem aktivierten Areal. Er führt zu einer Unterschätzung der Amplitude der hämodynamischen Antwort [Boas, D. A. et al. 2001]. Mindestens ebenso wichtig erscheint die Fehlerquelle durch *Cross-talk* aufgrund unterschiedlicher spektraler Sensitivität bei distinkten Wellenlängen. Hier würde sich etwa eine Zunahme des [oxy-Hb] als Zunahme des [deoxy-Hb] abbilden [Boas, D. A. et al. 2001; Uludag, K. et al. 2002]. Die Ergebnisse des zweiten Teils dieser Arbeit spiegeln diese Fehlerquellen nur teilweise wider. Das [deoxy-Hb]-Signal zeigte

entsprechend der Erwartung Boas' und Mitarbeiter bei optimaler Lokalisierung (loc1) die höchste Lateralisierung, das heißt, der [deoxy-Hb]-Abfall im kontralateralen Kortex relativ zum ipsilateralen war hier am größten. Bei ungenau lokalisierten Optoden (loc2) wurde jedoch die Amplitude des [deoxy-Hb] wie auch der BOLD-Antwort größer und zeigte eine breitere Streuung und verplumpte Kurvenform. Erst bei völlig divergentem NIRS-MV von der aktivierten Area (loc3) war die Amplitude der Antwort des [deoxy-Hb] kleiner als im ersten Fall mit erwartungsgemäß fehlender Lateralisierung. Ein von Boas und Kollegen [Boas, D. A. et al. 2001] postulierter Ansatz zur Reduktion des *Cross-talks* bei mehr als zwei Wellenlängen wurde in dieser Arbeit realisiert, indem mit der Verwendung der 3-Komponenten Dekonvolution der NIR-Spektren (inklusive der Cyt-Ox als Chromophor) die Residuen der gemessenen Spektren minimiert wurden [Obrig, H. et al. 2000].

6.2 NIRS-fMRT-Simultanansatz

Das deoxygenierte Hämoglobin steht bei der hier verwendeten kurzen Stimulationsdauer im Vordergrund der NIRS. Es wurde aufgrund seiner paramagnetischen Eigenschaften auch für die fMRT früh als wichtigste Einflussgröße für den BOLD-Kontrast verantwortlich gemacht [Ogawa, S. et al. 1990a]. Mehrere Studien haben in letzter Zeit in Simultanmessungen mit beiden Verfahren eine gute zeitliche Korrelation des [deoxy-Hb]- und BOLD-Kontrast-Verlaufs gezeigt [Steinbrink, J. et al. 2006]. Die verwendeten Stimulationsparadigma basierten auf motorischer Block-Stimulation [Kleinschmidt, A. et al. 1996; Toronov, V. et al. 2001; Mehagnoul-Schipper, D. J. et al. 2002; Strangman, G. et al. 2002], Sprachproduktion und -verarbeitung [Yamamoto, T. and Kato, T. 2002], komplex-motorischen Aufgaben wie dem Schälen von Äpfeln [Okamoto, M. et al. 2004] und im Tierversuch [Punwani, S. et al. 1997; Punwani, S. et al. 1998]. Meist wurden kommerzielle NIRS-Apparaturen verwendet, die eine Anwendung von maximal 4 Wellenlängen zulassen. Die Verwendung eines kontinuierlichen Spektrums außerhalb unserer Arbeitsgruppe in Kombination mit bildgebenden Verfahren wurde bislang nicht publiziert.

6.2.1 Korrelation BOLD-Kontrast mit [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]

Mehrere Arbeiten beschreiben ein unterschiedliches Verhalten des BOLD-Kontrastes und der beiden Hämoglobinantworten.

Mehagnoul-Schipper und Mitarbeiter fanden mit einer 40 Sekunden dauernden Stimulation eine deutlich bessere Korrelation zwischen BOLD-Kontrast und [oxy-Hb] als [deoxy-Hb] [Mehagnoul-Schipper, D. J. et al. 2002]. Auch in der vorliegenden Arbeit war die Amplitude des [oxy-Hb] größer, zeigte jedoch keine Lateralisierung. In der Korrelation der beiden Parameter mit dem BOLD-Signal zeigte sich eine besser lokalisierte und lateralisierte Übereinstimmung für das [deoxy-Hb], während das [oxy-Hb] als hämodynamische Referenzfunktion eine topographisch unschärfere Korrelation im bilateralen sensomotorischen Kortex sowie im Bereich der Mittellinie zeigte. Bereits 1996 konnte eine Arbeit unserer Gruppe zeigen, dass die [oxy-Hb]-Antwort in der NIRS weniger räumlich umschrieben reagiert als die des [deoxy-Hb] [Hirth, C. et al. 1996].

Allen oben genannten Arbeiten, die motorische Paradigmen in Simultanmessungen verwendeten, ist gemein, dass sie lediglich Stimulationen der kontralateralen Seite aufzeichneten, indem die Optoden über der linken Hemisphäre angebracht waren, während rechts stimuliert wurde. Entsprechend erschwert ist die Aussage über mögliche Unterschiede der Lateralisierung zwischen [oxy-Hb] und [deoxy-Hb]. Es ist jedoch anzunehmen, dass der Einfluss der systemischen hämodynamischen Antwort bei längerer Stimulation relativ geringer ausfällt und eine zerebrale neurovaskuläre Antwort sich stärker auch im [oxy-Hb]-Signal abbildet, als dies bei dem hier verwendeten Paradigma der Fall ist.

In einer jüngsten Studie führten Huppert, Boas und Kollegen ebenfalls mittels einer motorischen *single-trial* Stimulation Simultanmessungen des BOLD-Kontrastes und der NIRS durch [Huppert, T. J. et al. 2006]. Sie fanden eine exzellente Korrelation zwischen BOLD-Kontrast und [deoxy-Hb] mit nahezu identischem Zeitverlauf beider Signale. Der Vergleich von [oxy-Hb] mit dem BOLD-Kontrast fiel schwächer aus. Dies bestätigt die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und stützt den Ansatz, dass fMRT und NIRS denselben hämodynamischen Parameter, das [deoxy-Hb], mit hoher Sensitivität abbilden.

6.2.2 Ipsilaterale BOLD-Aktivierung

Eine Antwort auf ipsilaterale Stimulation zeigte sich in dieser Arbeit nicht nur in den Signalantworten der NIRS, wie dies eine systemische hämodynamische Antwort implizieren würde. Auch $BOLD_{max}$ stieg, wenngleich auch mit kleinerer Amplitude, bei gleichzeitiger Fingerbewegung an. Im Tierversuch am Affen ist eine ipsilaterale Aktivierung seit längerem bekannt [Kuypers, H. G. and Brinkman, J. 1970; Aizawa, H. et al. 1990]. Die Autoren beschreiben die Aktivierung einer im anterioren Anteil des Gyrus praecentralis gelegenen Area bei ipsilateraler Bewegung im Vergleich zu kontralateraler Motorik. Wassermann und Kollegen fanden bei transkranieller Magnetstimulation beim Menschen ein Maximum der motorisch-evozierten Potenziale an ipsilateralen Fingermuskeln nach Stimulation einer lateral jener Kortexareale gelegenen Stelle, die die kontralateralen Fingerbewegungen repräsentierte [Wassermann, E. M. et al. 1994]. Ähnliche Ergebnisse fanden auch Cramer und Mitarbeiter, die mittels motorischer Block-Stimulation in der fMRT gesunde Probanden und Patienten nach einem Schlaganfall der dominanten Hemisphäre untersuchten [Cramer, S. C. et al. 1999]. Die räumliche Auflösung des hier verwendeten NIRS-Setups ist sicherlich nicht geeignet, eine Differenzierung innerhalb des primärmotorischen Kortex vorzunehmen. Diese Beobachtungen könnten jedoch die teilweise sehr gute Korrelation zwischen $BOLD_{MV}$ und [deoxy-Hb] bei fehlender Lateralisierung der Parameter erklären.

6.2.3 Variabilität des BOLD-Kontrastes

Bei *event-related* ausgelegten Studien in der fMRT konnte gezeigt werden, dass das BOLD-Signal bei mehreren Messungen im Verlauf eines Tages *intraindividuell* relativ stabil blieb, während es zwischen einzelnen Individuen die größten Differenzen gab [Aguirre, G. K. et al. 1998]; [Huppert, T. J. et al. 2006]. Bei komplex-motorischen Aufgaben sind die *interindividuellen* Schwankungen stärker, es kann hier aber auch zu Veränderungen im einzelnen Probanden bei repetitiven Untersuchungen kommen durch Habituation oder Lernprozesse [Loubinoux, I. et al. 2001; Buckner, R. L. et al. 2000]. Eine Vereinfachung der Aufgabe, die ein Proband oder Patient für eine funktionelle Aktivierung absolvieren muss, scheint daher sinnvoll, insbesondere wenn es sich um ältere Patienten handelt. Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass für funktionelle Untersuchungen sowohl in der fMRT als auch der NIRS eine einfache motorische

Aufgabe ausreicht.

6.2.4 Problem der Optodenfixierung

Bei optimal platzierten Optoden korrelierten [deoxy-Hb] und $BOLD_{MV}$ in 7 von 9 Fällen. Bis auf eine Ausnahme zeigten alle diese Fälle eine deutliche Lateralisierung des [deoxy-Hb] nach kontralateral. In einer ähnlich konzeptionierten Studie mittels einer motorischen Block-Stimulation konnten Toronov und Kollegen in nur 50 % ihrer Probanden eine Korrelation zwischen dem NIRS-Signal und dem BOLD-Kontrast nachweisen [Toronov, V. et al. 2001]. Die fehlende Übereinstimmung in den übrigen Fällen führten sie auf Kontamination durch hämodynamische Einflüsse in den oberflächlichen Schichten zurück. Die fehlende Korrelation in der vorliegenden Arbeit bei zwei der 9 Fälle (loc1) könnte zum einen durch ein abgeschwächtes NIRS-Signal aufgrund einer stärkeren Streuung und Absorption durch unterschiedliche Hautpigmentierung oder Haarfarbe erklärt werden. Als möglicher Einfluss wäre ebenfalls eine interindividuelle Schwankung in der Ausdehnung der Aktivierung von M1 denkbar, die in Einzelfällen von der NIRS nicht ausreichend erfasst wird.

Die in dieser Arbeit gezeigte Antwortqualität der NIRS-Parameter in Abhängigkeit von der Lokalisation der Optoden deckt sich weitgehend mit der Literatur. Trotz der sorgfältigen Fixierung der Optoden und des in Studie 2 vor jeder funktionellen Messung angefertigten T1-Datensatzes mit dem *Fiducial*-Netz zur exakten Bestimmung der Omega-Windung konnte nur in 9 von 20 Hemisphären eine entsprechend gute Lokalisation der NIRS-Kanäle gewährleistet werden. Die Halterung der Optoden war biegungssteif und wenig elastisch, es kam während beider Studien zu keiner Luxation einer Optode aus der Halterung, so dass sie als Quelle einer sekundären Dislokation ausscheiden. Am ehesten kommt eine Verschiebung der Optoden nach Fixierung beim oder nach dem Einbringen des Kopfes der Probanden in die Kopfspule in Betracht, der dort mit Vakuumkissen seitlich stabilisiert wurde. Unwillkürliche Bewegungen sollten hierdurch weitestgehend minimiert werden, sind jedoch nicht vollständig auszuschließen. Erweiterte NIRS-Systeme mit mehreren Kanälen, wie sie mittlerweile schon verwendet werden [Watanabe, E. et al. 1996] und auch in der eigenen Arbeitsgruppe entwickelt wurden [Liebert, A. et al. 2004], können in Zukunft diese Problematik deutlich verringern, indem sie – wenn auch bislang nur grob auflösende –

Bilder auf der Basis der NIRS-Parameter generieren können und damit eine nachträgliche Auswahl der ROIs möglich wird.

6.3 Klinischer Ausblick

Eine nicht-invasive Methode zur Messung der zerebralen Oxygenierungsverhältnisse, wie sie die NIRS darstellt, bietet prinzipiell gute Voraussetzungen zur Untersuchung am Patientenbett, insbesondere der Überwachung über einen längeren Zeitraum. Die NIRS ist mittlerweile in einer Vielzahl von Studien vornehmlich für die Untersuchung von Patienten mit vaskulären Erkrankungen angewendet worden [Kato, H. et al. 2002; Asgari, S. et al. 2003; Murata, Y. et al. 2002]. Das hier beschriebene NIRS-System wurde aus einzelnen Komponenten zusammengestellt und bietet somit neben logistischen Nachteilen aufgrund der Größe der Apparatur und der gewiss noch verbesserbaren Optodenhaltung das prinzipielle Problem eines sehr begrenzten Messvolumens. In Ansätzen wurde die NIRS oder die auf ihr basierende transkraniale Oxymetrie auch bei Patienten mit aneurysmatischer Subarachnoidalblutung (SAB) angewendet [Keller, E. et al. 2002; Ekelund, A. et al. 1998; Slavin, K. V. et al. 1994] mit vielversprechenden Ergebnissen zur frühen Detektierung des zerebralen Vasospasmus, der nach wie vor die schwerwiegendste Komplikation im Verlauf dieser Erkrankung darstellt. Neue NIRS-Systeme werden entwickelt, die eine Bildgebung in Ansätzen ermöglichen [Watanabe, E. et al. 1996]. In der eigenen Arbeitsgruppe wurde unabhängig ein Mehr-Kanal-System entwickelt, das bereits eine Darstellung funktioneller Aktivierung mit relativ grober Auflösung ermöglicht [Liebert, A. et al. 2004]. Andere Techniken zur Überwachung der zerebralen Perfusion, der Gewebssauerstoffversorgung oder des zerebralen Stoffwechsels sind entweder mit großem technischen Aufwand und Kosten verbunden und stellen lediglich Moment-Aufnahmen dar (Perfusions-/Diffusions-gewichtete MRT, Perfusions-CT, PET oder SPECT), sind invasiv und lokal begrenzt (zerebrale Gewebssauerstoffmessung, zerebrale Mikrodialyse, intraparenchymale CBF-Messung) oder nach wie vor umstritten in ihrer Spezifität und Sensitivität (transkraniale Dopplersonographie). Die Verwendung der NIRS mit verbessertem Setup, die weniger anfällig für eine Fehllokalisierung einzelner Optodenkanäle sind, könnte in Zukunft insbesondere bei der zeitlichen Dynamik der SAB ein wertvolles Instrument zur Überwachung von Patienten und Früherkennung des Vasospasmus darstellen.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein möglichst einfaches motorisches Stimulationsparadigma in der Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) getestet, das für Untersuchungen der neurovaskulären Kopplung insbesondere bei Patienten mit vaskulären Erkrankungen tauglich sein soll. Es wurde der Einfluss möglicher stimulationsbezogener systemisch-hämodynamischer Veränderungen untersucht sowie die Wertigkeit der Lokalisation der Optoden für das NIRS-Signal aufgezeigt. Verwendet wurde ein 2-Kanal-NIRS-System, das eine Spektralanalyse des gesamten NIR-Lichtes zwischen 720 und 920 nm ermöglicht. Zur kontinuierlichen Aufzeichnung der systemisch-hämodynamischen Antwort wurde der periphere arterielle Blutdruck über eine nicht-invasive Kapillarpulsdruckmanschette am V. Finger der linken Hand registriert. Um die Optodenlokalisation in Bezug auf das aktivierte Areal zu erfassen, wurden Simultanmessungen der NIRS und der funktionellen Magnetresonanztomographie (fMRT) im MR-Tomographen mit *Blood-Oxygen-Level-Dependent*- (BOLD-) Kontrast-sensitiven Sequenzen durchgeführt.

Die motorische Stimulation im Bereich von 10 bis 30 Sekunden *block-designed* ist weit verbreitet, unterliegt jedoch Einflüssen der Habituation (intraindividuell) und Übungsartefakten (interindividuell), was die Vergleichbarkeit der so erzielten Ergebnisse erschwert. Die einzelne schnellende Fingerbewegung, durch Tastendruck registriert, ist in der Lage, eine ausreichend starke neurovaskuläre Antwort hervorzurufen, die eine lateralisierte [deoxy-Hb]-Änderung zur Folge hat und sowohl in der NIRS als auch der fMRT entsprechend registriert wird. Bei der motorischen Stimulation kommt es zu einer systemischen Mitreaktion des Blutdruckes, was sich besonders im [oxy-Hb] niederschlägt und bei der Kürze der Stimulationsdauer hier keine Lateralisierung erkennen lässt.

Die exakte Positionierung der Optoden ist entscheidend für das hier verwendete 2-Kanal-NIRS-System. Liegt das in der BOLD-fMRT maximal aktivierte Areal nicht zwischen den Optoden im durchstrahlten Volumen, ist keine Lateralisierung im [deoxy-Hb] mehr festzustellen und damit die intrazerebrale Herkunft eines gemessenen NIRS-Signals fraglich.

Die motorische Stimulation mittels Tastendrucks durch eine einzelne Fingerbewegung ist technisch gut durchführbar und eignet sich somit prinzipiell für die Anwendung insbesondere bei älteren Patienten. Der klinisch-routinehaften Anwendung der NIRS in

dem hier verwendeten Aufbau steht die Problematik der unsicheren Optodenlokalisierung entgegen. Weiterentwickelte Systeme, die eine großflächigere Untersuchung oder optische Bildgebung des Kortex ermöglichen und nicht auf die punktuelle Messung beschränkt sind, können in Zukunft dem Potential dieser Technik gerecht werden und ihre Vorteile im Konzert des bildgebenden diagnostischen Orchesters verstärkt zur Geltung bringen.

Teile dieser Arbeit wurden in folgender Publikation veröffentlicht:

Steinbrink, J., Villringer, A., Kempf, F. et al. Illuminating the BOLD signal: combined fMRI-fNIRS studies. Magn Reson. Imaging 2006; 24: 495-505.

Literaturverzeichnis

1. *Aguirre, G. K., Zarahn, E., and D'Esposito, M.* The variability of human, BOLD hemodynamic responses. *Neuroimage*. 1998; 8: 360-369.
2. *Aizawa, H., Mushiake, H., Inase, M. et al.* An output zone of the monkey primary motor cortex specialized for bilateral hand movement. *Exp.Brain Res*. 1990; 82: 219-221.
3. *Asgari, S., Rohrborn, H. J., Engelhorn, T. et al.* Intraoperative measurement of cortical oxygen saturation and blood volume adjacent to cerebral arteriovenous malformations using near-infrared spectroscopy. *Neurosurgery* 2003; 52: 1298-1304.
4. *Attwell, D. and Laughlin, S. B.* An energy budget for signaling in the grey matter of the brain. *J Cereb.Blood Flow Metab* 2001; 21: 1133-1145.
5. *Beer, A.* Versuch der Absorptions-Verhältnisse des Cordierites für rothes Licht zu bestimmen. *Ann Phys Chem* 1851; 84: 37-52.
6. *Blasdel, G. and Campbell, D.* Functional retinotopy of monkey visual cortex. *J Neurosci*. 2001; 21: 8286-8301.
7. *Blasdel, G. G.* Visualization of neuronal activity in monkey striate cortex. *Annu.Rev.Physiol* 1989; 51: 561-581.
8. *Bloch, F., Hansen, W. W., and Packard, M.* The Nuclear Induction Experiment. *Physical Review* 1946; 70: 460-
9. *Boas, D. A., Gaudette, T., Strangman, G. et al.* The accuracy of near infrared spectroscopy and imaging during focal changes in cerebral hemodynamics. *Neuroimage*. 2001; 13: 76-90.
10. *Boynton, G. M., Engel, S. A., Glover, G. H. et al.* Linear systems analysis of functional magnetic resonance imaging in human V1. *J.Neurosci*. 1996; 16: 4207-4221.
11. *Brazy, J. E., Lewis, D. V., Mitnick, M. H. et al.* Noninvasive monitoring of cerebral

oxygenation in preterm infants: preliminary observations. *Pediatrics* 1985; 75: 217-225.

12. *Buckner, R. L., Snyder, A. Z., Sanders, A. L. et al.* Functional brain imaging of young, nondemented, and demented older adults. *J Cogn Neurosci.* 2000; 12 Suppl 2: 24-34.
13. *Buxton, R. B. and Frank, L. R.* A model for the coupling between cerebral blood flow and oxygen metabolism during neural stimulation. *J Cereb.Blood Flow Metab* 1997; 17: 64-72.
14. *Cannestra, A. F., Bookheimer, S. Y., Pouratian, N. et al.* Temporal and topographical characterization of language cortices using intraoperative optical intrinsic signals. *Neuroimage.* 2000; 12: 41-54.
15. *Chance, B., Zhuang, Z., UnAh, C. et al.* Cognition-activated low-frequency modulation of light absorption in human brain. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1993; 90: 3770-3774.
16. *Cooper, C. E., Matcher, S. J., Wyatt, J. S. et al.* Near-infrared spectroscopy of the brain: relevance to cytochrome oxidase bioenergetics. *Biochem.Soc.Trans.* 1994; 22: 974-980.
17. *Cope, M.* The development of a near infrared spectroscopy system and its application for non-invasive monitoring of cerebral blood flow and tissue oxygenation in the newborn infant. Thesis/Dissertation University College London, London, 1991.
18. *Cope, M. and Delpy, D. T.* System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infra-red transillumination. *Med.Biol.Eng Comput.* 1988; 26: 289-294.
19. *Cramer, S. C., Finklestein, S. P., Schaechter, J. D. et al.* Activation of distinct motor cortex regions during ipsilateral and contralateral finger movements. *J.Neurophysiol.* 1999; 81: 383-387.
20. *Damadian, R.* Tumor detection by nuclear magnetic resonance. *Science* 1971;

171: 1151-1153.

21. *Duncan, A., Meek, J. H., Clemence, M. et al.* Measurement of cranial optical path length as a function of age using phase resolved near infrared spectroscopy. *Pediatr.Res.* 1996; 39: 889-894.
22. *Edelstein, W. A., Hutchison, J. M., Johnson, G. et al.* Spin warp NMR imaging and applications to human whole-body imaging. *Phys Med.Biol.* 1980; 25: 751-756.
23. *Ekelund, A., Kongstad, P., Saveland, H. et al.* Transcranial cerebral oximetry related to transcranial Doppler after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir.(Wien.)* 1998; 140: 1029-1035.
24. *Evans, A. J., Hedlund, L. W., Herfkens, R. J. et al.* Evaluation of steady and pulsatile flow with dynamic MRI using limited flip angles and gradient refocused echoes. *Magn Reson Imaging* 1987; 5: 475-482.
25. *Firbank, M., Okada, E., and Delpy, D. T.* A theoretical study of the signal contribution of regions of the adult head to near-infrared spectroscopy studies of visual evoked responses. *Neuroimage.* 1998; 8: 69-78.
26. *Fox, P. T. and Raichle, M. E.* Focal physiological uncoupling of cerebral blood flow and oxidative metabolism during somatosensory stimulation in human subjects. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1986; 83: 1140-1144.
27. *Frahm, J., Bruhn, H., Merboldt, K. D. et al.* Dynamic MR imaging of human brain oxygenation during rest and photic stimulation. *J.Magn Reson.Imaging* 1992; 2: 501-505.
28. *Franceschini, M. A., Fantini, S., Thompson, J. H. et al.* Hemodynamic evoked response of the sensorimotor cortex measured noninvasively with near-infrared optical imaging. *Psychophysiology* 2003; 40: 548-560.
29. *Germon, T. J., Evans, P. D., Manara, A. R. et al.* Sensitivity of near infrared spectroscopy to cerebral and extra-cerebral oxygenation changes is determined by emitter-detector separation. *J.Clin.Monit.Comput.* 1998; 14:

353-360.

30. *Gratton, G., Corballis, P. M., Cho, E. et al.* Shades of gray matter: noninvasive optical images of human brain responses during visual stimulation. *Psychophysiology* 1995; 32: 505-509.
31. *Grinvald, A., Anglister, L., Freeman, J. A. et al.* Real-time optical imaging of naturally evoked electrical activity in intact frog brain. *Nature* 1984; 308: 848-850.
32. *Grinvald, A., Lieke, E., Frostig, R. D. et al.* Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 1986; 324: 361-364.
33. *Haglund, M. M., Ojemann, G. A., and Hochman, D. W.* Optical imaging of epileptiform and functional activity in human cerebral cortex. *Nature* 1992; 358: 668-671.
34. *Heekeren, H. R.* Nichtinvasive optische Messung des zerebralen Cytochrom-c-Oxidase Redox-Status bei visueller Stimulation. Thesis/Dissertation Humboldt-Universität zu Berlin, 1999.
35. *Heekeren, H. R., Kohl, M., Obrig, H. et al.* Noninvasive assessment of changes in cytochrome-c oxidase oxidation in human subjects during visual stimulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1999; 19: 592-603.
36. *Heekeren, H. R., Obrig, H., Wenzel, R. et al.* Cerebral haemoglobin oxygenation during sustained visual stimulation--a near-infrared spectroscopy study. *Philos Trans.R.Soc.Lond B Biol.Sci.* 1997; 352: 743-750.
37. *Hirth, C., Obrig, H., Villringer, K. et al.* Non-invasive functional mapping of the human motor cortex using near-infrared spectroscopy. *Neuroreport* 1996; 7: 1977-1981.
38. *Hoppe-Seyler, F.* Über die chemischen und optischen Eigenschaften des Blutfarbstoffes. *Arch Pathol Anat Physiol* 1864; 29: 233-251.
39. *Horovitz, S. G. and Gore, J. C.* Simultaneous event-related potential and near-infrared spectroscopic studies of semantic processing. *Hum.Brain Mapp.*

2004; 22: 110-115.

40. *Hoshi, Y., Onoe, H., Watanabe, Y. et al.* Non-synchronous behavior of neuronal activity, oxidative metabolism and blood supply during mental tasks in man. *Neurosci.Lett.* 1994; 172: 129-133.
41. *Hoshi, Y. and Tamura, M.* Dynamic multichannel near-infrared optical imaging of human brain activity. *J Appl.Physiol* 1993; 75: 1842-1846.
42. *Hounsfield, G. N.* Computerized transverse axial scanning (tomography). 1. Description of system. *Br.J Radiol.* 1973; 46: 1016-1022.
43. *Huppert, T. J., Hoge, R. D., Diamond, S. G. et al.* A temporal comparison of BOLD, ASL, and NIRS hemodynamic responses to motor stimuli in adult humans. *Neuroimage.* 2006; 29: 368-382.
44. *Hüfner, G.* Über die Bedeutung der in der vorigen Abandlung vorgetragenen Lehre für die Spektroskopie und Photometrie des Blutes. *Arch Physiol (Leipzig)* 1890; 31: 28-30.
45. *Jasdzewski, G., Strangman, G., Wagner, J. et al.* Differences in the hemodynamic response to event-related motor and visual paradigms as measured by near-infrared spectroscopy. *Neuroimage.* 2003; 20: 479-488.
46. *Jöbsis, F. F.* Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 1977; 198: 1264-1267.
47. *Kato, H., Izumiyama, M., Koizumi, H. et al.* Near-infrared spectroscopic topography as a tool to monitor motor reorganization after hemiparetic stroke: a comparison with functional MRI. *Stroke* 2002; 33: 2032-2036.
48. *Kato, T., Kamei, A., Takashima, S. et al.* Human visual cortical function during photic stimulation monitoring by means of near-infrared spectroscopy. *J Cereb Blood Flow Metab* 1993; 13: 516-520.
49. *Keller, E., Nadler, A., Imhof, H. G. et al.* New methods for monitoring cerebral oxygenation and hemodynamics in patients with subarachnoid hemorrhage. *Acta Neurochir.Suppl* 2002; 82: 87-92.

50. Kennan, R. P., Horovitz, S. G., Maki, A. et al. Simultaneous recording of event-related auditory oddball response using transcranial near infrared optical topography and surface EEG. *Neuroimage*. 2002a; 16: 587-592.
51. Kennan, R. P., Kim, D., Maki, A. et al. Non-invasive assessment of language lateralization by transcranial near infrared optical topography and functional MRI. *Hum.Brain Mapp*. 2002b; 16: 183-189.
52. Kirchhoff, G. R. and Bunsen, R. W. E. *Chemische Analyse durch Spectralbeobachtungen*. Engelmann, Leipzig, 1860.
53. Kleinschmidt, A., Obrig, H., Requardt, M. et al. Simultaneous recording of cerebral blood oxygenation changes during human brain activation by magnetic resonance imaging and near-infrared spectroscopy. *J Cereb.Blood Flow Metab* 1996; 16: 817-826.
54. Kohl-Bareis, M., Obrig, H., Steinbrink, J. et al. Noninvasive monitoring of cerebral blood flow by a dye bolus method: separation of brain from skin and skull signals. *J Biomed Opt* 2002; 7: 464-470.
55. Kumar, A., Welti, D, and Ernst, R. R. NMR Fourier zeugmatography. *J Magn Reson* 1975; 18: 69-83.
56. Kuypers, H. G. and Brinkman, J. Precentral projections to different parts of the spinal intermediate zone in the rhesus monkey. *Brain Res*. 1970; 24: 29-48.
57. LaManna, J. C., Light, A. I., Peretsman, S. J. et al. Oxygen insufficiency during hypoxic hypoxia in rat brain cortex. *Brain Res*. 1984; 293: 313-318.
58. LaManna, J. C., Sick, T. J., Pikarsky, S. M. et al. Detection of an oxidizable fraction of cytochrome oxidase in intact rat brain. *Am.J Physiol* 1987; 253: C477-C483.
59. Lauterbur, P. C. Image Formations by Induced Local Interactions: Examples Employing Nuclear Magnetic Resonance. *Nature* 1973; 242: 190-191.
60. Liebert, A., Wabnitz, H., Steinbrink, J. et al. Time-resolved multidistance near-infrared spectroscopy of the adult head: intracerebral and extracerebral

absorption changes from moments of distribution of times of flight of photons. *Appl.Opt.* 2004; 43: 3037-3047.

61. *Lindauer, U., Megow, D., Matsuda, H. et al.* Nitric oxide: a modulator, but not a mediator, of neurovascular coupling in rat somatosensory cortex. *Am.J.Physiol* 1999; 277: H799-H811.
62. *Logothetis, N. K., Pauls, J., Augath, M. et al.* Neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature* 2001; 412: 150-157.
63. *Lou, H. C., Edvinsson, L., and MacKenzie, E. T.* The concept of coupling blood flow to brain function: revision required? *Ann.Neurol.* 1987; 22: 289-297.
64. *Loubinoux, I., Carel, C., Alary, F. et al.* Within-session and between-session reproducibility of cerebral sensorimotor activation: a test--retest effect evidenced with functional magnetic resonance imaging. *J Cereb.Blood Flow Metab* 2001; 21: 592-607.
65. *Lübbers, D and Niesel, W.* *Naturwissenschaften* 1957; 44: 60
66. *Magistretti, P. J.* Cellular bases of functional brain imaging: insights from neuron-glia metabolic coupling. *Brain Res.* 2000; 886: 108-112.
67. *Magistretti, P. J., Pellerin, L., Rothman, D. L. et al.* Energy on demand. *Science* 1999; 283: 496-497.
68. *Maki, A., Yamashita, Y., Ito, Y. et al.* Spatial and temporal analysis of human motor activity using noninvasive NIR topography. *Med.Phys* 1995; 22: 1997-2005.
69. *Masino, S. A., Kwon, M. C., Dory, Y. et al.* Characterization of functional organization within rat barrel cortex using intrinsic signal optical imaging through a thinned skull. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1993; 90: 9998-10002.
70. *Mehagnoul-Schipper, D. J., van der Kallen, B. F., Colier, W. N. et al.* Simultaneous measurements of cerebral oxygenation changes during brain activation by near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging in healthy young and elderly subjects. *Hum.Brain Mapp.* 2002; 16: 14-23.

71. Millikan, G. A. The oximeter: an instrument for measuring continuously oxygen saturation of arterial blood in man. 1942; 13: 434-444
72. Miyai, I., Tanabe, H. C., Sase, I. et al. Cortical mapping of gait in humans: a near-infrared spectroscopic topography study. *Neuroimage*. 2001; 14: 1186-1192.
73. Murata, Y., Sakatani, K., Katayama, Y. et al. Increase in focal concentration of deoxyhaemoglobin during neuronal activity in cerebral ischaemic patients. *J.Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 2002; 73: 182-184.
74. Obrig, H. Nahinfrarotspektroskopie des Gehirns. Thesis/Dissertation Medizinische Fakultät Charité, Humboldt-Universität zu Berlin, 2002.
75. Obrig, H., Heekeren, H. R., Ruben, J. et al. Continuous spectrum near-infrared approach in functional activation studies in the human adult. *Proc Opt Biop and Micr Tec* 1996a; 2926: 58-66.
76. Obrig, H., Hirth, C., Junge-Hulsing, J. G. et al. Cerebral oxygenation changes in response to motor stimulation. *J.Appl.Physiol* 1996b; 81: 1174-1183.
77. Obrig, H. and Villringer, A. Beyond the visible--imaging the human brain with light. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23: 1-18.
78. Obrig, H., Wenzel, R., Kohl, M. et al. Near-infrared spectroscopy: does it function in functional activation studies of the adult brain? *Int.J.Psychophysiol*. 2000; 35: 125-142.
79. Obrig, H., Wolf, T., Doge, C. et al. Cerebral oxygenation changes during motor and somatosensory stimulation in humans, as measured by near-infrared spectroscopy. *Adv.Exp.Med.Biol*. 1996c; 388: 219-224.
80. Ogawa, S., Lee, T. M., Kay, A. R. et al. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1990a; 87: 9868-9872.
81. Ogawa, S., Lee, T. M., Nayak, A. S. et al. Oxygenation-sensitive contrast in magnetic resonance image of rodent brain at high magnetic fields. *Magn*

Reson Med. 1990b; 14: 68-78.

82. *Okamoto, M., Dan, H., Shimizu, K. et al.* Multimodal assessment of cortical activation during apple peeling by NIRS and fMRI. *Neuroimage*. 2004; 21: 1275-1288.
83. *Pautler, R. G., Mongeau, R., and Jacobs, R. E.* In vivo trans-synaptic tract tracing from the murine striatum and amygdala utilizing manganese enhanced MRI (MEMRI). *Magn Reson Med*. 2003; 50: 33-39.
84. *Punwani, S., Cooper, C. E., Clemence, M. et al.* Correlation between absolute deoxyhaemoglobin [dHb] measured by near infrared spectroscopy (NIRS) and absolute R2' as determined by magnetic resonance imaging (MRI). *Adv.Exp.Med.Biol*. 1997; 413: 129-137.
85. *Punwani, S., Ordidge, R. J., Cooper, C. E. et al.* MRI measurements of cerebral deoxyhaemoglobin concentration [dHb]--correlation with near infrared spectroscopy (NIRS). *NMR Biomed*. 1998; 11: 281-289.
86. *Purcell, E. M., Torrey, H. C., and Pound, R. V.* Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid. *Physical Review* 1946; 69: 37
87. *Rector, D. M., Poe, G. R., Kristensen, M. P. et al.* Light scattering changes follow evoked potentials from hippocampal Schaeffer collateral stimulation. *J Neurophysiol*. 1997; 78: 1707-1713.
88. *Roland, P. E., Larsen, B., Lassen, N. A. et al.* Supplementary motor area and other cortical areas in organization of voluntary movements in man. *J Neurophysiol*. 1980; 43: 118-136.
89. *Roy, C. and Sherrington, C.* On the Regulation of the Blood-Supply of the Brain. *J Physiol* 1890; 11: 85-108.
90. *Severinghaus, J. W. and Astrup, P. B.* History of blood gas analysis. *Int.Anesthesiol.Clin*. 1987; 25: 1-224.
91. *Slavin, K. V., Dujovny, M., Ausman, J. I. et al.* Clinical experience with transcranial cerebral oximetry. *Surg.Neurol*. 1994; 42: 531-539.

92. *Stehling, M. K., Turner, R., and Mansfield, P.* Echo-planar imaging: magnetic resonance imaging in a fraction of a second. *Science* 1991; 254: 43-50.
93. *Steinbrink, J., Kempf, F. C., Villringer, A. et al.* The fast optical signal--robust or elusive when non-invasively measured in the human adult? *Neuroimage*. 2005; 26: 996-1008.
94. *Steinbrink, J., Villringer, A., Kempf, F. et al.* Illuminating the BOLD signal: combined fMRI-fNIRS studies. *Magn Reson.Imaging* 2006; 24: 495-505.
95. *Steinbrink, J., Wabnitz, H., Obrig, H. et al.* Determining changes in NIR absorption using a layered model of the human head. *Phys Med.Biol.* 2001; 46: 879-896.
96. *Steinmetz, H., Furst, G., and Meyer, B. U.* Craniocerebral topography within the international 10-20 system. *Electroencephalogr.Clin.Neurophysiol.* 1989; 72: 499-506.
97. *Stepnoski, R. A., LaPorta, A., Raccaia-Behling, F. et al.* Noninvasive detection of changes in membrane potential in cultured neurons by light scattering. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1991; 88: 9382-9386.
98. *Stokes, G. G.* On the reduction and oxygenation of the colouring matter of the blood. *Philos Mag* 1864; 28: 391-
99. *Strangman, G., Culver, J. P., Thompson, J. H. et al.* A quantitative comparison of simultaneous BOLD fMRI and NIRS recordings during functional brain activation. *Neuroimage*. 2002; 17: 719-731.
100. *Takeda, A., Ishiwatari, S., and Okada, S.* In vivo stimulation-induced release of manganese in rat amygdala. *Brain Res* 1998; 811: 147-151.
101. *Tanosaki, M., Hoshi, Y., Iguchi, Y. et al.* Variation of temporal characteristics in human cerebral hemodynamic responses to electric median nerve stimulation: a near-infrared spectroscopic study. *Neurosci.Lett.* 2001; 316: 75-78.
102. *Toronov, V., Webb, A., Choi, J. H. et al.* Investigation of human brain

hemodynamics by simultaneous near-infrared spectroscopy and functional magnetic resonance imaging. *Med.Phys.* 2001; 28: 521-527.

103. *Uludag, K.* Methodische Optimierung der Nah-Infrarot-Spektroskopie am Cortex. Thesis/Dissertation Humboldt-Universität zu Berlin, 2002.
104. *Uludag, K., Kohl, M., Steinbrink, J. et al.* Cross talk in the Lambert-Beer calculation for near-infrared wavelengths estimated by Monte Carlo simulations. *J Biomed Opt* 2002; 7: 51-59.
105. *Uludag, K., Steinbrink, J., Kohl-Bareis, M. et al.* Cytochrome-c-oxidase redox changes during visual stimulation measured by near-infrared spectroscopy cannot be explained by a mere cross talk artefact. *Neuroimage.* 2004; 22: 109-119.
106. *Vidal, F., Bonnet, M., and Macar, F.* Programming the duration of a motor sequence: role of the primary and supplementary motor areas in man. *Exp.Brain Res.* 1995; 106: 339-350.
107. *Villringer, A. and Dirnagl, U.* Coupling of brain activity and cerebral blood flow: basis of functional neuroimaging. *Cerebrovasc.Brain Metab Rev.* 1995; 7: 240-276.
108. *Villringer, A., Planck, J., Hock, C. et al.* Near infrared spectroscopy (NIRS): a new tool to study hemodynamic changes during activation of brain function in human adults. *Neurosci.Lett.* 1993; 154: 101-104.
109. *von Vierodt, K.* Die quantitative Spektralanalyse in ihrer Anwendung auf Physik, Chemie und Technologie. Tübingen, H. Laupp'sche Buchhandlung, 1876.
110. *Wassermann, E. M., Pascual-Leone, A., and Hallett, M.* Cortical motor representation of the ipsilateral hand and arm. *Exp.Brain Res.* 1994; 100: 121-132.
111. *Watanabe, E., Yamashita, Y., Maki, A. et al.* Non-invasive functional mapping with multi-channel near infra-red spectroscopic topography in humans. *Neurosci.Lett.* 1996; 205: 41-44.

112. *Weilke, F., Spiegel, S., Boecker, H. et al.* Time-resolved fMRI of activation patterns in M1 and SMA during complex voluntary movement. *J.Neurophysiol.* 2001; 85: 1858-1863.
113. *Wenzel, R., Obrig, H., Ruben, J. et al.* Cerebral blood oxygenation changes induced by visual stimulation in humans. *J Biomed Opt* 1996; 1: 399-404.
114. *Wiese, H., Stude, P., Nebel, K. et al.* Movement preparation in self-initiated versus externally triggered movements: an event-related fMRI-study. *Neurosci.Lett.* 2004; 371: 220-225.
115. *Wyatt, J. S., Cope, M., Delpy, D. T. et al.* Quantification of cerebral oxygenation and haemodynamics in sick newborn infants by near infrared spectrophotometry. *Lancet* 1986; 2: 1063-1066.
116. *Yacoub, E., Duong, T. Q., Van De Moortele, P. F. et al.* Spin-echo fMRI in humans using high spatial resolutions and high magnetic fields. *Magn Reson Med.* 2003; 49: 655-664.
117. *Yamamoto, T. and Kato, T.* Paradoxical correlation between signal in functional magnetic resonance imaging and deoxygenated haemoglobin content in capillaries: a new theoretical explanation. *Phys Med.Biol.* 2002; 47: 1121-1141.

Anhang

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Arno Villringer für die Überlassung des Themas zu dieser Arbeit und die Bereitstellung der technischen Gerätschaften.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Hellmuth Obrig, der während dieser Arbeit vom engagierten Mentor zum Doktorvater wurde und ohne den diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Von physikalischer Seite ratgebend unterstützt wurde ich von Prof. Dr. Matthias Kohl-Bareis, dem ich hiermit meinen herzlichen Dank aussprechen möchte.

Vielen Dank auch an alle Kolleginnen und Kollegen der Arbeitsgruppe für den anregenden Meinungsaustausch und die fruchtbare Arbeitsatmosphäre.

Die Förderung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Graduiertenkollegs „Kognitive Neurowissenschaften“ möchte ich hier gesondert dankend erwähnen.

Abschließend möchte ich meinen Eltern meinen ganz persönlichen Dank aussprechen für die geduldige moralische und finanzielle Unterstützung während dieser Arbeit.

Eidesstattliche Erklärung

Ich, Daniel Haux, erkläre an Eides statt, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Nahinfrarotspektroskopie und funktionelle Magnet-Resonanz-Tomographie: simultaner Ansatz bei motorischer Einzelstimulation.“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Heidelberg, im Dezember 2007

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Heidelberg, im Dezember 2007

Publikationen

Maurer, M.H., Haux, D., Sakowitz, O.W., Unterberg, A., Kuschinsky, W. Identification of early markers für symptomatic vasospasm in human cerebral microdialysate after subarachnoid hemorrhage: preliminary results of a proteome-wide screening. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2007; 27 (10): 1675-83. Epub 2007 Feb 28.

Steinbrink, J., Villringer, A., Kempf, F., Haux, D., Boden, S., Obrig, H. Illuminating the BOLD signal: combined fMRI-fNIRS studies. *Magn Reson.Imaging* 2006; 24: 495-505.

Haux, D., Unterberg, A.W., Stover, J.F., Sarrafzadeh, A.S. Early detection of vasospasm after aneurysmatic subarachnoid hemorrhage by Bedside Microdialysis and effects of triple-H therapy on cerebral metabolism (eingereicht)

Haux, D., Unterberg, A.W. Neurochirurgie in und jenseits der 8. Lebensdekade; in: *Neurochirurgie*, Edts. D. Moskopp, Schattauer Verlag Stuttgart 2004

Sarrafzadeh, A.S., Haux, D., Lüdemann, L., et al., Cerebral ischemia in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a correlative microdialysis-PET study. *Stroke.* 2004 Mar;35(3):638-43. Epub 2004 Feb 12.

Sarrafzadeh, A.S., Haux, D., Kuchler, I., Lanksch W.R., Unterberg, A.W. Poor-grade aneurysmal subarachnoid hemorrhage: relationship of cerebral metabolism to outcome. *J Neurosurg.* 2004 Mar;100(3):400-6.

Sarrafzadeh, A.S., Haux, D., Sakowitz, O., Benndorf, G., Herzog, H., Kuechler, I., Unterberg, A.W. Acute Focal Neurological Deficits in Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage: Relation of Clinical Course, CT Findings and Metabolite Abnormalities monitored with Bedside Microdialysis, *Stroke.* 2003 Jun;34(6):1382-8. Epub 2003 May 15.

